ISSN 0022-4847

台灣農業研究

第五十九卷　第三期

研究報告

使用反應曲面法決定紫甘藷塊根最佳花青素萃取參數
黃哲倫、廖文昌、詹錦豐、賴永昌 143

常見薊馬幼蟲形態鑑定 (昆蟲綱：纓翅目)
林鳳琪、邱一中、徐孟愉、王清玲 151

利用莖節培養誘導多倍體台灣金線連之研究
夏奇鈮、黃健瑋、陳威臣、曹進義、梁淑惠、蔡新聲 165

黃條葉蚤 [*Phyllotreta striolata* (Fabricius)] (Coleoptera: Chrysomelidae) 之幼生期形態研究
李奇峰、邱一中 177

龍眼種原遺傳多樣性之 ISSR 標誌研究
蔣功國、溫英杰、李維育、張靜誼 185

荔枝新品種'台農 5 號 (紅寶石)'之育成
張哲瑋、顏昌瑞、王婉伶、劉茂南 197

砧木種類對桶柑植株生長、產量與品質的影響
黃阿賢、洪士程 209

中華民國九十九年九月

行政院農業委員會農業試驗所出版

中華民國　台灣　台中縣　霧峰鄉

Optimization for the Anthocyanin Extraction from Purple Sweet Potato Roots, Using Response Surface Methodology[1]

Che-Lun Huang[2], Wayne-Chang Liao[3], Chin-Feng Chan[4], and Yung-Chang Lai[2,5]

Abstract

Huang, C. L., W. C. Liao, C. F. Chan, and Y. C. Lai. 2010. Optimization for the anthocyanin extraction from purple sweet potato roots, using response surface methodology. J. Taiwan Agric. Res. 59:143–150.

Anthocyanins were successfully extracted from 'TNG 73' purple sweet potato roots by using acidic-ethanol extraction. Three extraction parameters including HCl concentration, extraction time, and temperature were evaluated. Response surface methodology (RSM), an effective statistical technique was applied to establish a regression model. The coefficients of the regression model were calculated and used to predict the extraction performance and determine the optimal operating conditions. In conclusion, the optimal conditions for the 'TNG 73' anthocyanin extraction were determined to be 12% HCl (1.5 N HCl in EtOH), 45 min, and 50℃.

Key words: Anthocyanins, Purple sweet potato, Extraction, Response surface methodology.

Introduction

A newly cultivated purple sweet potato 'Tainung 73' ('TNG 73'), was bred by Chiayi Agricultural Experiment Branch, Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), ROC. 'TNG 73' root has reddish-purple flesh and contains significant amount of dietary fibers. It also contains 70% water and 50 to 300 μg/g anthocyanins on a dry basis. 'TNG 73' is the first sweet potato variety developed by a Taiwanese breeder with high anthocyanin content. The average yield is above 30 t/ha.

Purple sweet potatoes are a good source of anthocyanins. The anthocyanin contents of purple sweet potato roots have been compared previously (Shi *et al.* 1992; Goda *et al.* 1997). Other than purple sweet potatoes, some vegetables and fruits, like grape, cherry, carrot, berry, and cabbage, also contain anthocyanins (Gao & Mazza 1996; Ju & Howard 2003; Longo & Vasapollo 2006). Temperature, pH, and the storage condition affect the stability of anthocyanins (Torskangerpoll & Andersen 2005; Kirca *et al.* 2007). Anthocyanins prepared from the purple sweet potatoes are more stable than those from vegetables and fruits (Kano *et al.* 2005). Moreover, anthocyanins and their derivatives are widely used as natural pigments and food additives (Downham & Collins 2000; Giusti & Wrolstad 2003). They show remarkable anti-oxidative, anti-inflammatory, and anti-tumor ability (Bomser 1996; Wang *et al.* 1999). However, their low stability makes them difficult to sustain thermal treatments (Scalzo *et al.* 2008).

Anthocyanins can be extracted from deep-purple plants by using organic solvents (Brigita-Lapornik *et al.* 2005; Kapasakalidis *et al.* 2006). For example, an aqueous solution of acidic-methanol was used to extract anthocyanins from grapes (Revilla *et al.* 1998). Although acidic-methanol has been approved to be a useful and

1. Contribution No. 2409 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: September 9, 2010.
2. Respectively, Assistant Researcher, Associate Researcher and Head, Department of Agronomy, Chiayi Agricultural Experiment Branch, TARI, Chiayi, Taiwan, ROC.
3. Assistant Professor, Department of Nursing, Chang Gung Institution of Technology, Chiayi, Taiwan, ROC.
4. Assistant Professor, Department of Applied Cosmetology, Hung Kuang University, Taichung, Taiwan, ROC.
5. Corresponding author: e-mail: davidlai@dns.caes.gov.tw; Fax: (05)2773630.

feasible extraction method, methanol is less desirable for medical or food applications. Therefore, acidic-ethanol is chosen as an alternative because of its lower toxicity. Meanwhile, some new extraction methods that do not use hazardous solvents have been developed recently. They require more energy; thus, they are economically infeasible sometimes.

Response surface methodology (RSM) is an effective statistical technique of process optimization. The theoretical aspects of RSM have been reviewed (Bas & Boyaci 2007; Myers *et al*. 2009). Most of the empirical methods assume that only individual factors affect the response, and there is no interaction between these factors. RSM is able to evaluate the interactions between various factors. It has been widely used in chemical, biological and agricultural applications to predict the optimal conditions of the systems (Liyana-Pathirana & Shahidi 2005; Cacace & Mazza 2006). If there is a linear relationship between the independent factors and the response, the first-order model can be used.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i X_i + \varepsilon \qquad (1)$$

Where Y is the response; X_i are input variables; β_0 is the intercept; β_i are linear coefficients; and ε is an error term.

If the relationship between the independent factors and the response is a curve, the second-order model will be introduced to fit the systems. The second-order model includes linear, quadratic, and interactive components.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i X_i + \sum_{i=1}^{k} \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{k}\sum_{i<j}^{k} \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon \qquad (2)$$

Where Y is the response; X_i, X_j are input variables; β_0 is the intercept; β_i are linear coefficients; β_{ii} are squared coefficients; β_{ij} are interaction coefficients; ε is an error term.

For three independent variables analysis (X_1, X_2, and X_3), equation 2 can be rearranged as:

$$\begin{aligned} Y &= \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{23} X_2 X_3 \\ &\quad + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 \end{aligned} \qquad (3)$$

The central composite design (CCD) is the most popular design method for second-order model. CCD has 2^k factorial experiments where k represents the number of independent factor. Two parameters, including the central point (n_c) and the distance (α) from the axial point to central point, need to be decided before designing the experiment. Based on the definition, $\alpha = (2^k)^{1/4}$, α is equal to 1.414 and 1.682 for two-factor and three-factor designs respectively. The main goal of this study was to establish a regression model to predict the performance of anthocyanin extraction process of TNG73. The influence of independent factors on the extraction process was also analyzed by using RSM.

Materials and Methods

Purple sweet potatoes TNG73 were grown in the field of Chiayi Agricultural Experiment Branch following standard commercial cultural practices. After harvest, roots were cut into cubes (approximately 2 cm × 2 cm), dried in a vacuum oven at 50℃ for 24 h, then pulverized and sieved with a 100 mesh screen. The collected powder was then transferred into bottles, and stored in a refrigerator at 4℃ for further use.

For extraction parameter study, the dried powder was extracted by HCl/EtOH (1.5 N HCl in ethanol) solutions with solid/solvent ratio of 10 g/100 mL. A water-bath shaker (Model No. B601D, Firstek[R] Co. Ltd., Taiwan) was used to maintain the temperature. Each sample was initially diluted 5× with 0.1 N HCl/EtOH [15 : 85 (V/V)] before analysis. The absorbance of anthocyanin was measured at 532 nm wavelength at 25℃ using UV/VIS spectrophotometer (Jasco V530, International Co. Ltd., Tokyo, Japan).

Statistical analysis

The statistical evaluation was performed by running analysis of variance (ANOVA) and regression calculation using SAS[R] (version 9.0, SAS institute, Cary, NC, USA). A 3^3 full factorial design with three independent factors (HCl concentration, extraction time, and extraction temperature) was employed to fit a second-order extraction model. Each factor had three levels which were coded as -1, 0, and 1. The central points (n_c, coded as 0) for each extraction factor were 9% HCl, 30 min, and 40℃ respecttively. The solid/solvent ration was 10 g/100 mL. The significance of regression coefficients, appeared as associated probabilities, was also evaluated. For significant values, means were separated by the least significant difference (LSD) test at p ≦ 0.05 to generate a mathematical model to predict system responses. The 3-D mesh plots and contour maps were used to demonstrate the results.

Results and Discussion

The results indicated that the extraction performance was mainly dependent on HCl concentration, extraction time, and extraction temperature. The central composite design (CCD) was used to optimize the extraction conditions and investigate effects of three independent factors on anthocyanin extraction. In addition, analysis of variance (ANOVA) was applied to highlight the most significant factors in the extraction process. For extraction parameter study, the results of 20 experimental

runs with completed design were shown in Table 1, and the range of absorbance was from 0.370 to 0.588. The central points (n_c), upper, and lower levels of three independent factors were chosen based on the practicability of scaling-up.

Table 2 shows the ANOVA of three independent factors (HCl concentration, extraction time, and extraction temperature) for anthocyanin extraction. Since all factors were all significant for determining the extraction performance, any change of these factors would have a significant effect on anthocyanin content of extracts. The regression coefficients of intercept, linear, quadratic, and interaction terms in the experimental model and their levels of significance were determined by using regression sub-routine function of SAS^R (Table 3). All linear components in the experimental model were significant.

Table 1. Experimental data and the observed response values (absorbance, with 10 g/100 mL solid/solvent ratio) with three independent factors, X_1 (% HCl, 1.5 N HCl in EtOH), X_2 (extraction time, min), and X_3 (extraction temperature, ℃)

	Factors			
Run No.	X_1 (% HCl)	X_2 (min)	X_3 (℃)	Response values Absorbance
1	6.0 (-1) [z]	15.0 (-1)	30.0 (-1)	0.392 [y]
2	6.0 (-1)	15.0 (-1)	50.0 (1)	0.451
3	6.0 (-1)	45.0 (1)	30.0 (-1)	0.426
4	6.0 (-1)	45.0 (1)	50.0 (1)	0.512
5	12.0 (1)	15.0 (-1)	30.0 (-1)	0.415
6	12.0 (1)	15.0 (-1)	50.0 (1)	0.460
7	12.0 (1)	45.0 (1)	30.0 (-1)	0.490
8	12.0 (1)	45.0 (1)	50.0 (1)	0.588
9	4.0 (-1.68)	30.0 (0)	40.0 (0)	0.396
10	14.0 (1.68)	30.0 (0)	40.0 (0)	0.538
11	9.0 (0)	4.8 (-1.68)	40.0 (0)	0.370
12	9.0 (0)	55.2 (1.68)	40.0 (0)	0.517
13	9.0 (0)	30.0 (0)	23.2 (-1.68)	0.425
14	9.0 (0)	30.0 (0)	56.8 (1.68)	0.515
15	9.0 (0)	30.0 (0)	40.0 (0)	0.474
16	9.0 (0)	30.0 (0)	40.0 (0)	0.464
17	9.0 (0)	30.0 (0)	40.0 (0)	0.484
18	9.0 (0)	30.0 (0)	40.0 (0)	0.479
19	9.0 (0)	30.0 (0)	40.0 (0)	0.487
20	9.0 (0)	30.0 (0)	40.0 (0)	0.477

[z] (-1), (0), and (1) were coded for levels of independent factors.
[y] Each value was mean of 3 replication.

Table 2. Analysis of variance for the overall effect of factors on the response

Factors	DF	SS	MS	F	Pr > F
X_1 (% HCl)	4	0.0138	0.0035	14.21	0.0004* [z]
X_2 (min)	4	0.0256	0.0064	26.19	< 0.0001*
X_3 (°C)	4	0.0150	0.0037	15.30	0.0003*

[z], * Significant at 5% level of probability.

Table 3. Regression coefficients for the acidic-ethanol anthocyanin extraction process

Regression coefficient	DF	Estimate	t value	Pr > | t |
Intercept β_0	1	0.4772	74.87	< 0.0001
β_1	1	0.0301	7.11	< 0.0001
β_2	1	0.0399	9.44	< 0.0001
β_3	1	0.0322	7.61	< 0.0001
β_{11}	1	-0.0021	-0.51	0.6207
β_{12}	1	0.0135	2.44	0.0347
β_{22}	1	-0.0104	-2.53	0.0299
β_{13}	1	-0.0003	-0.05	0.9648
β_{23}	1	0.0100	1.81	0.1005
β_{33}	1	-0.0010	-0.25	0.8054

For the quadratic components, the extraction time (square component) and the interaction between HCl concentration and extraction time (interactive component) were significant. The regression coefficients were calculated, and the regression model was shown in the coded factors as:

$$Y = 0.4772 + 0.0301\ X_1 + 0.0399\ X_2 + 0.0322\ X_3 + 0.0135\ X_1X_2 + 0.01\ X_2X_3 - 0.0003\ X_1X_3 - 0.0021\ X_1^2 - 0.0104\ X_2^2 - 0.001\ X_3^2 \qquad (4)$$

Where Y is the observed absorbance of extracts; X_1 is %HCl; X_2 is extraction time; X_3 is extraction temperature; X_1, X_2, and X_3 factors were all coded as -1, 0, and +1, and $R^2 = 0.9552$.

The predicted response values were calculated by applying the polynomial response surface model equation (equation 4), and the regression model with low dispersion (R^2 = 0.9552) was observed, suggesting that this model was successful to predict the anthocyanin extraction. If one factor in equation 4 was fixed at a specific value, effects of other two factors on anthocyanin extraction could be showed by plotting the 3-D mesh graph and contour curves. For example, when the extraction temperature (X_3) was set at 50℃ (coded as 1), the effects of HCl concentration and extraction time on absorbance of extracts were shown in Fig. 1 (A) (3-D mesh plots) and Fig. 1 (B) (contour plots). The HCl concentration effect was more significant at longer extraction time. As a result, more HCl and longer extraction time achieved better extraction results. The maximum absorbance value was obtained at 12% HCl (coded as 1) and 45 min (coded as 1). Fig. 2 shows the effect of HCl concentration and extraction temperature on the absorbance of extracts under 45 min extraction. The maximum absorbance value was obtained at 12% HCl (coded as 1) and 50°C (coded as 1). According to Fig. 2 (B), the increase of absorbance caused by HCl concentration and extraction time was almost linear. Therefore, increasing HCl concentration was as good as increasing extraction temperature. The effect of extraction time and extraction temperature on the absorbance of extracts with 12% HCl (1.5 N HCl in EtOH) was shown in Fig. 3. The maximum absorbance value was obtained at 45 min (coded as 1) and 50℃ (coded as 1). The absorbance of verification test with 12% HCl, 45 min, and 50℃ was 0.588. This value was very close to the predicted value of 0.589 calculated by equation 4. However, scaling-up process requires a consideration of economical aspects to determine the optimal operating conditions.

Results concluded in the present study are similar to previous studies (Shi *et al*. 1992; Goda *et al*. 1997). They demonstrate important implications for the food ingredient industry. Meanwhile, the change of HCl concentration, extraction time, and temperature had a significant influence on the anthocyanin extraction (Table 2). Similar results have been reported by Torskangerpoll & Andersen (2005) and Kirca *et al*. (2007). Fig. 1 shows that more HCl and longer extraction time achieved better extraction results. However, when scale-up a process, the optimal operating conditions are usually determined by combing the operating parameters with the economical aspects. Thus, the optimal conditions for the TNG73 anthocyanin extraction were determined to be 12% HCl (1.5 N HCl in EtOH), 45 min, and 50℃. The regression model developed by the response surface methodology will help manufacturers optimize the extraction process.

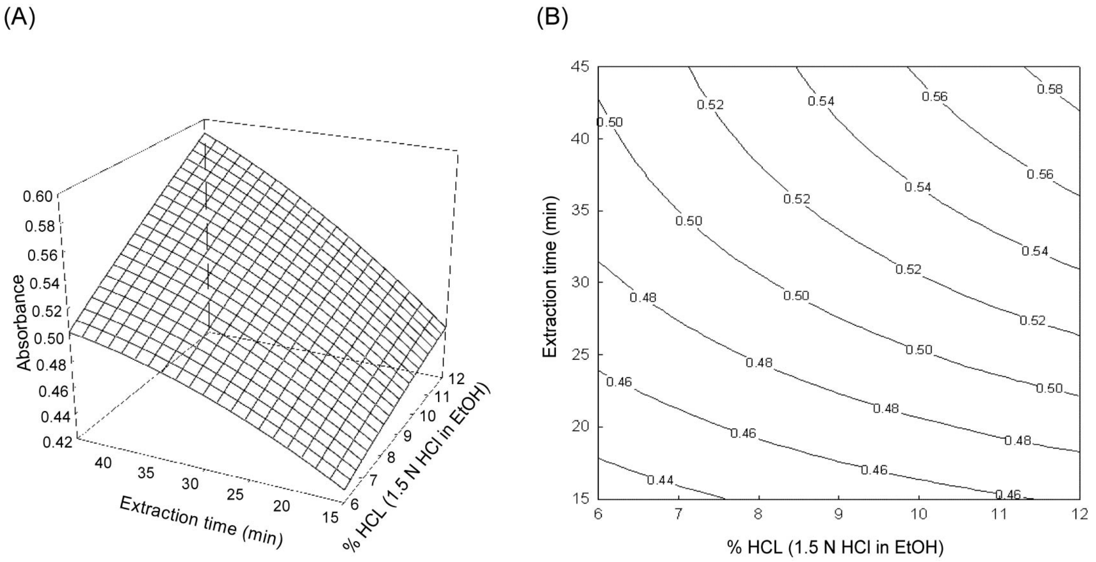


Fig. 1. 3-D mesh plot (A) and contour plot (B) of the effect of HCl concentration and extraction time on absorbance of extracts at 50℃.

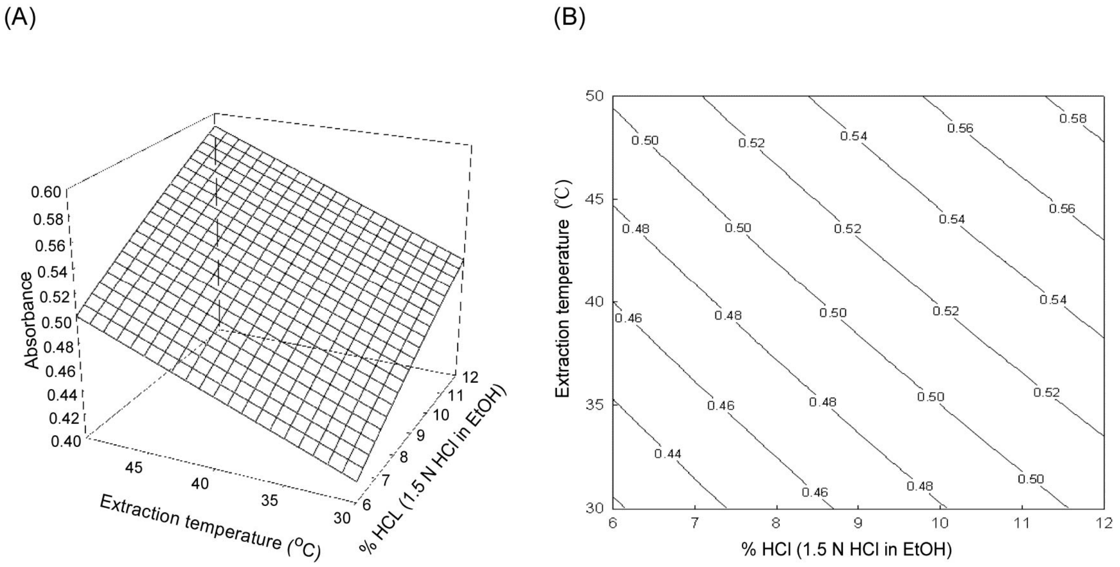


Fig. 2. 3-D mesh plot (A) and contour plot (B) of the effect of HCl concentration and extraction temperature on absorbance of extracts for 45 min extraction.

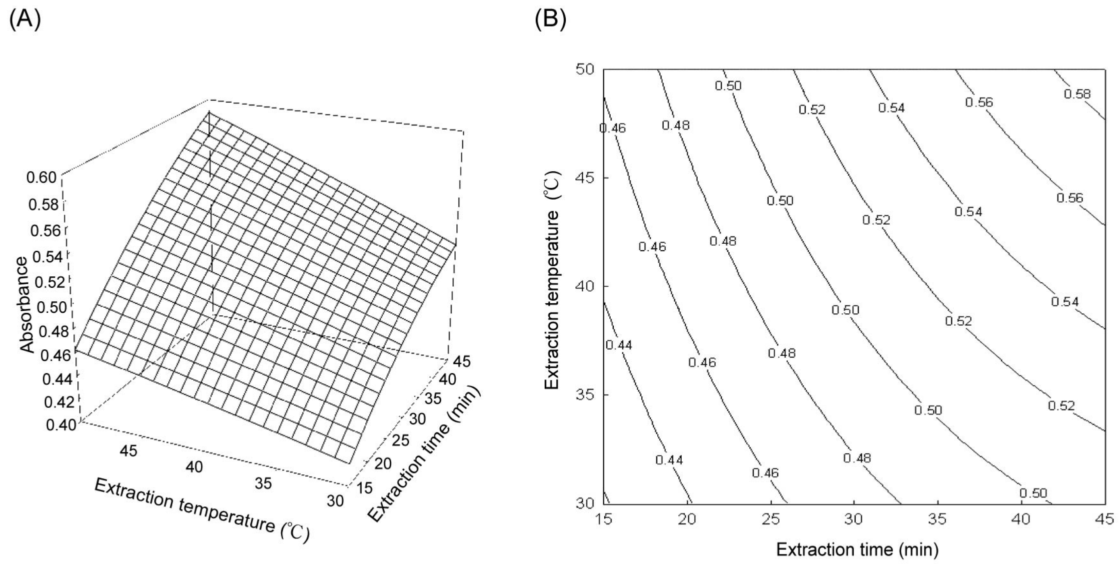


Fig. 3. 3-D mesh plot (A) and contour plot (B) of the effect of extraction time and temperature on absorbance of extracts with 12% HCl (1.5 N HCl in EtOH).

Literature cited

Bas, D. and I. H. Boyaci. 2007. Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology. J. Food Eng. 78:836–845.

Bomser, J. 1996. *In vitro* anticancer activity of fruit extracts from vaccinium species. Planta Med. 62:212–216.

Brigita-Lapornik, B. M. Prosek, and A. G. Wondra. 2005. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. J. Food Eng. 71:214–222.

Cacace, J. E. and G. Mazza. 2006. Optimization of extraction of anthocyanins from black currants with aqueous ethanol. J. Food Sci. 68:240–248.

Downham, A. and P. Collins. 2000. Colouring our foods in the last and next millennium. Int. Food Sci. Tech. 35: 5–22.

Gao, L. and G. Mazza. 1996. Extraction of anthocyanin pigments from purple sunflower hulls. J. Food Sci. 61:600–603.

Giusti, M. M. and R. E. Wrolstad. 2003. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. Biochem. Eng. J. 14:217–225.

Goda, Y., T. Shimizu, Y. Kato, M. Nakamura, T. Maitani, T. Yamada, N. Terahara, and M. Yamaguchi. 1997. Two acylated anthocyanins from purple sweet potato. Phytochemistry 44:183–186.

Ju, Z. Y. and L. R. Howard. 2003. Effects of solvent and temperature on pressurized liquid extraction of anthocyanins and total phenolics from dried red grape skin. J. Agric. Food Chem. 51:5207–5213.

Kano, M., T. Takayanagi, K. Harada, K. Makino, and F. Ishikawa. 2005. Antioxidative activity of anthocyanins from purple sweet potato, *Ipomoera batatas* cultivar ayamurasaki. Biosci. Biotechnol. Biochem. 69:979–988.

Kapasakalidis, P. G., R. A. Rastall, and M. H. Gordon. 2006. Extraction of polyphenols from processed black currant (Ribesnigrum L.) residues. J. Agric. Food Chem. 54:4016–4021.

Kirca, A., M. Ozkan, and B. Cemeroglu. 2007. Effects of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins. Food Chem. 101:212–218.

Liyana-Pathirana, C. and F. Shahidi. 2005. Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. Food Chem. 93:47–56.

Longo, L. and G. Vasapollo. 2006. Extraction and identification of anthocyanins from Smilax aspera L. berries. Food Chem. 94:226–231.

Myers, R. H., D. C. Montgomery, and C. M. Anderson-Cook. 2009. Two-level factorial designs. p.73–108. *in*: Response Surface Methodology-Process and Product Optimization Using Designed Experiments. 3rd ed. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey.

Revilla, E., J. Ryan, and G. Martin-Ortega. 1998. Comparison of several procedures used for the extraction of anthocyanins from red grapes. J. Agric. Food Chem. 46:592–4597.

Scalzo, R. L., A. Genna, F. Branca, M. Chedin, and H. Chassaigne. 2008. Anthocyanin composition of cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. botrytis) and cabbage (*B. oleracea* L. var. capitata) and its stability in relation to thermal treatments. Food Chem. 107: 136–144.

Shi, Z. U., I. A. Bassa, S. L. Gabriel, and F. J. Francis. 1992. Anthocyanin pigments of sweet potatoes-*Ipomoea batatas*. J. Food Sci. 57:755–757.

Torskangerpoll, K. and O. M. Andersen. 2005. Colour stability of anthocyanins in aqueous solutions at various pH values. Food Chem. 89:427–440.

Wang, H., M. G. Nair, G. M. Strasburg, Y. C. Chang, A. M. Booren, J. I. Gray, and D. L. Dewitt. 1999. Antioxidant and anti-inflammatory activities of anthocyanins and their aglycone, cyaniding, from tart cherries. J. Nat. Prod. 62:294–296.

行政院農業委員會農業試驗所 TAIWAN AGRICULTURAL RESEARCH INSTITUTE 1895

使用反應曲面法決定紫甘藷塊根最佳花青素萃取參數 [1]

黃哲倫[2] 廖文昌[3] 詹錦豐[4] 賴永昌[2,5]

摘　要

黃哲倫、廖文昌、詹錦豐、賴永昌。2010。使用反應曲面法決定紫甘藷塊根最佳花青素萃取參數。台灣農業研究 59:143–150。

使用酸化乙醇萃取法成功地從‘TNG 73’紫甘藷中萃取出花青素，三個萃取參數包括 HCl 濃度、萃取時間、以及萃取溫度都在本研究中被仔細評估，反應曲面法 (Response surface methodology, RSM) 是一種很有效的統計工具，可用來建立迴歸模組，而此迴歸模組的係數經計算後，可用來預測萃取製程的表現及決定最佳的萃取操作條件，本研究結果顯示，12% HCl (1.5 N HCl 和乙醇的混合物)、45 分鐘萃取時間、以及 50°C 萃取溫度是‘TNG 73’紫甘藷花青素的最佳萃取條件。

關鍵詞：花青素、紫甘藷、萃取、反應曲面法。

---

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2409 號。接受日期：99 年 9 月 9 日。
2. 本所嘉義分所農藝系助理研究員、副研究員兼系主任。台灣 嘉義市。
3. 長庚技術學院嘉義校區護理系助理教授。台灣 嘉義縣。
4. 弘光科技大學化妝品應用系助理教授。台灣 台中縣。
5. 通訊作者，電子郵件：davidlai@dns.caes.gov.tw；傳真機：(05)2773630。

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 59(3):151–164 (2010)

常見薊馬幼蟲形態鑑定 (昆蟲綱：纓翅目)[1]

林鳳琪[2,3] 邱一中[2] 徐孟愉[2] 王清玲[2]

摘 要

林鳳琪、邱一中、徐孟愉、王清玲。2010。常見薊馬幼蟲形態鑑定 (昆蟲綱：纓翅目)。台灣農業研究 59:151–164。

錐尾亞目薊馬二齡幼蟲體表具有的特徵，可利用於直接辨別幼蟲種類。以身體顏色、剛毛 (seta) 長短與形狀、微毛 (microtrichia) 有無、以及胸部與腹部分布之皮顆 (plaque)、腹部第 9 節後緣突齒 (process)、頭與腹部末端骨化區 (sclerotised area) 等特殊結構，可區分台灣農作物常見薊馬 6 屬 12 種，包括蘭花薊馬 [*Dicromothrips corbetti* (Priesner)]、尖角薊馬 [*Frankliniella cephalica* (Crawford)]、台灣花薊馬 [*F. intonsa* (Trybom)]、玉米薊馬 (*F. williamsi* Hood)、豆花薊馬 (*Megalurothrips usitatus* Bagnall)、菊花薊馬 [*Microcephalothrips abdominalis* (D. L. Crawford)]、腹鉤薊馬 (*Ripiphorothrips cruntatus* Hood)、小黃薊馬 (*Scirtothrips dorsalis* Hood)、青蔥薊馬 [*Thrips alliorum* (Priesner)]、花薊馬 [*T. hawaiiensis* (Morgan)]、南黃薊馬 (*T. palmi* Karny)、蔥薊馬 (*T. tabaci* Lindeman)，以及進口植物檢疫常見的西方花薊馬 [*F. occidentalis* (Pergande)]。

關鍵詞：纓翅目、薊馬、幼蟲、形態、鑑定。

前 言

薊馬分類鑑定主要以成蟲期形態為依據，尤著重於雌成蟲，因其具可供鑑定的主要特徵。以往台灣已記錄之錐尾亞目薊馬 120 種 (Wang 2002)，以及國內外農作物重要薊馬 40 餘種 (Wang & Hsu 2007) 之鑑定技術，均依據成蟲特徵，對於幼蟲形態鑑定的資料則相當缺乏。然而進口農產品檢疫檢查所截獲的薊馬多是幼蟲；栽植於田間的作物發生薊馬時，因成蟲活躍，受到驚擾即迅速逃逸，亦常常只採到幼蟲。若將幼蟲飼養至成蟲需費時日，且不一定成活，所以無論檢疫或防治，均需要以幼蟲直接鑑定的技術。本文針對台灣農作物常見薊馬 12 種，以及檢疫經常截獲之西方花薊馬 [*Frankliniella occidentalis* (Pergande)]，觀察比較二齡幼蟲形態特徵，作為幼蟲分類鑑識的參考。

近年由於分子生物之鑑定技術進步，在需要幼蟲鑑定的場合，能利用 DNA 分析，對少數特定薊馬種類作鑑別。例如 (1) 聚合酶連鎖反應-限制酶片段長度多態型 (PCR-RFLP) 分析 (Moritz *et al*. 2000; Brunner *et al*. 2002; Toda

---

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2410 號。接受日期：99 年 9 月 14 日。
2. 本所應用動物組副研究員、聘用助理研究員、研究助理、研究員兼組長。台灣 台中縣 霧峰鄉。
3. 通訊作者，電子郵件：fclin@tari.gov.tw；傳真機：(04)23317600。

& Komazaki 2002; Lin *et al*. 2003; Liu 2004; Mainali *et al*. 2008)；(2) DNA 逢機增幅多態型-聚合酶連鎖反應 (RAPD-PCR) 分析 (Mainali *et al*. 2008); (3) 即時定量聚合酶連鎖反應 (real-time PCR) 分析 (Walsh *et al*. 2005; Huang *et al*. 2010)，為近幾年發展的快速且靈敏之鑑定技術。

幼蟲形態的鑑定仍為最直接而簡單又快速的方法，迄今僅有少部分薊馬有幼蟲分類特徵描述及檢索表可供鑑定。早期一篇專門研究薊馬幼蟲形態的報告發表於 1941 年，當時 Speyer & Parr 有系統的整理薊馬幼蟲外部形態特徵，在其發表 76 頁的報告中，包括 48 幅線繪圖，描述十餘種錐尾亞目薊馬一齡與二齡幼蟲特徵，文中對於幼蟲頭、胸、腹等各部位及觸角、足等，均做詳細描述，是薊馬幼蟲分類上甚具價值的一篇參考文獻，也是本文所使用形態特徵名詞的主要依據。Miyazaki & Kudo (1986) 描述日本農作物 12 種薊馬二齡幼蟲形態，其中亦分布於台灣的有 9 種，有些種類並不常見。此外，薊馬屬 (Kirk 1987; Kucharczyk 2004) 與花薊馬屬 (Nakahara & Vierberge 1998) 因常為害作物，也有一些幼蟲種類間鑑定方法的報告。

有少數報告針對個別薊馬描述幼蟲形態，如中國薊馬 (*Haplothrips chinenesis* Priesner)、桑薊馬 [*Pseudodendrothrips mori* (Niwa)]，對其幼蟲甚或連同蛹、成蟲等，有過形態描述 (Miyazaki & Kudo 1989; Wang & Hsu 1996)，但絕大部分的薊馬缺少未成熟時期的描述與鑑定特徵研究，幼蟲的形態研究相當匱乏，沒有充分資料可做種類鑑定的依據，以致幼蟲形態的直接鑑定困難。

材料與方法

由於缺少以幼蟲為種類依據的模式標本，種的確認必須先以成蟲為本，然後追溯至幼蟲。本研究所用幼蟲必須是與成蟲一同採集而來，當植株上只有一種薊馬存在，可確認幼蟲與成蟲是同種，利用成蟲鑑定種類後，再觀察該種幼蟲特徵。當一種以上薊馬混合存在時，無法確定幼蟲與成蟲是同種，需以解剖顯微鏡進行活體外形觀察，將外觀相同幼蟲以一部分飼養至成蟲，如此而確定剩下幼蟲的種類，再進行幼蟲觀察與描述 (此方法僅在花薊馬上使用過)，共觀察 12 種台灣農作物常見薊馬以及進口植物檢疫上常遇到的西方花薊馬。

本研究所觀察的是二齡幼蟲之形體，將幼體逐一挑出，以 Hoyer solution 製作玻片標本，置於烘箱 (40 ± 2℃) 中 1 日至蟲體透明，以光學顯微鏡檢視比較身體顏色及形態特徵。除形態描述外，亦配合以圖形描繪與照片。用於觀察的農作物薊馬幼蟲均是作者等採集，西方花薊馬樣品是由動植物防疫檢疫局所提供，所有玻片標本均存放於本所應用動物組昆蟲標本館。

結　果

錐尾亞目二齡幼蟲形態特徵 (圖 1)

頭：觸角 6 節，前伸，第 5、6 節較短小，第 3、4 節有環繞該節之微毛 (microtrichia)。頭背方兩眼間有中對毛 (median pair setae) 2 對，兩側有 3 對毛。眼由 4 個小眼點 (stemmata) 組成，無單眼。口器左右不對稱，剛毛多。

胸：有 3 分離之胸節，前胸梯形，後胸為身體各節中最短。前胸背有 7 + 1 對毛，中前方 1 對極短；中胸 7 對毛與 1 對氣孔；後胸 5 對毛。3 對足。

腹：共 11 節，第 11 節短小呈薄膜狀。第一齡幼蟲第 4–8 節有 1 對毛，第 2 齡則具有 3 對毛。第 1–8 節有皮顆 (plaques)，第 9、10 節皮顆有或無。第 9 節後緣有排列規則或不規則的突齒 (processes)。第 2 與第 8 腹節兩側各有一對氣孔 (spiracle)，第 9、10 節背表各有 1 對感覺孔 (sensory dome，或稱 pori)，有的第 8 節亦有 1 對感覺孔。

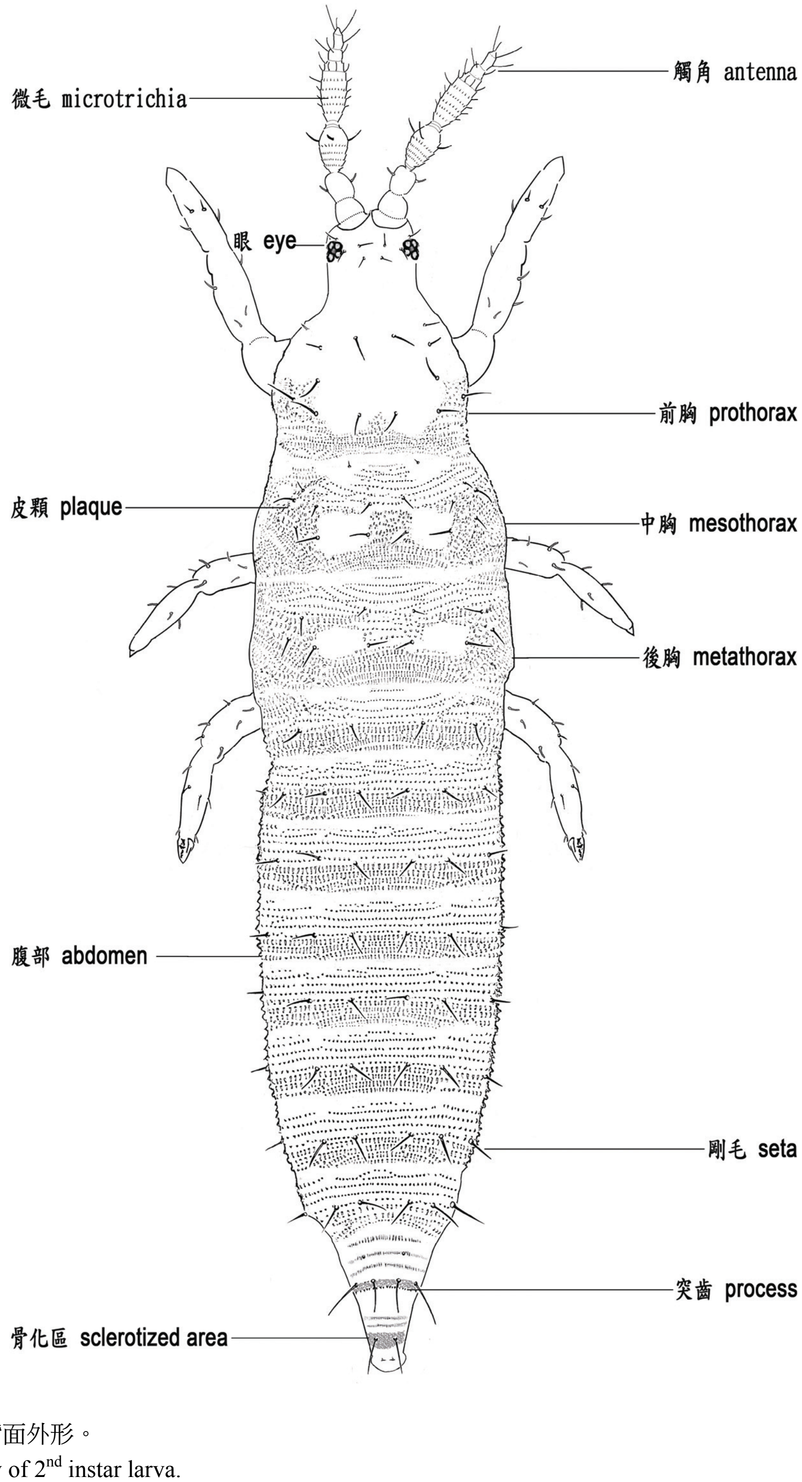


圖 1. 二齡幼蟲背面外形。
Fig. 1. Dorsal view of 2nd instar larva.

剛毛 (seta) (圖 2)：二齡幼蟲體表剛毛多變化，依剛毛末端粗細與形狀可區分為：(a) 尖形 (acute)：末端尖短；(b) 鞭形 (flagelliform)：末端尖而細長絲狀；(c) 平鈍形 (blunt)：末端不尖，與稍前方等粗；(d) 圓鈍形 (knobbed)：末端圓形膨大；(e) 截狀 (truncate)：剛毛粗，末端如直角截斷；(f) 漏斗形 (crateriform)：末端散開成傘狀或漏斗狀。

微毛 (microtrichia)：著生於觸角或附屬於皮顆，極為細小。

皮顆 (plaque) (圖 3)：密布於幼蟲胸部與腹部表面，可能為 (a) 長條形、(b) 橢圓形、(c) 半橢圓形、(d) 細點狀。皮顆通常以多數排成不規則之橫列，每一皮顆末端生有 1 支微毛 (microtrichia)，也有的無微毛。

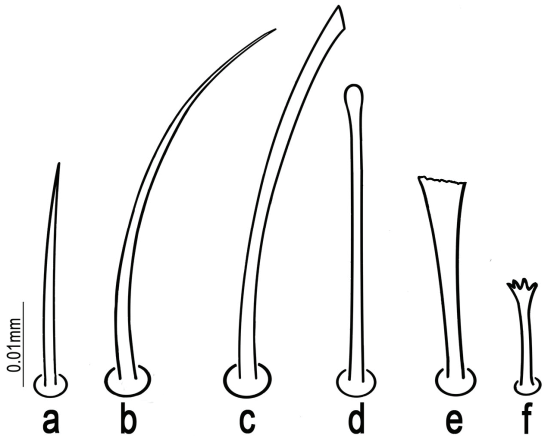


圖 2. 剛毛形狀。(a) 尖形；(b) 鞭形；(c) 平鈍形；(d) 圓鈍形；(e) 截狀；(f) 漏斗形。

Fig. 2. Types of setae: (a) acute; (b) flagelliform; (c) blun; (d) knobbed; (e) truncate; (f) crateriform.

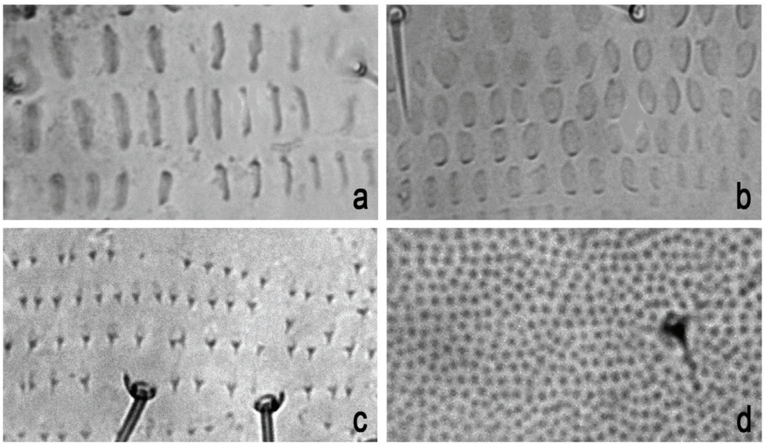


圖 3. 皮顆形狀。(a) 長條形；(b) 橢圓形；(c) 半橢圓形；(d) 細點狀。

Fig. 3. Shape of plaque: (a) elongated; (b) oval; (c) semi-ova; (d) dotted.

突齒 (process)：著生於腹部背表第 9 節後緣，有一排齒狀凸出物，視幾丁質化程度而淡褐色至黑褐色。

骨化區 (sclerotized area)：幼蟲體表硬化而呈現灰色或褐色區塊，頭部與胸部通常呈灰黑色斑塊 (圖 4)，位於腹部第 9、10 節者呈褐色圈狀。

常見薊馬二齡幼蟲型態特徵

蘭花薊馬 *Dicromothrips corbetti* (Priesner) (圖 5–7)

顏色：體淡黃，眼深紅，胸部與腹部第 1–8 節有紅色素，第 10 節末端 1/3 有灰黑色骨化區。

背表：身體主剛毛截狀，短小；皮顆在第 1–7 節長條形無毛，第 8 節橢圓，微毛極短或無；第 9 節後緣有 5–7 支短小突齒；觸角第 2、3 節端部各有一對末端粗鈍的截狀毛，第 3 節無微毛。

標本檢查：二齡幼蟲 15 隻，台中縣霧峰鄉，蘭花，2009。

尖角薊馬 *Frankliniella cephalica* (Crawford) (圖 8)

顏色：體淡黃無紅色素，眼有紅色素，第 9 節末端 1/3–1/4 與第 10 節約 1/2 有黃褐色骨化區。

背表：身體主剛毛尖形；皮顆第 1–7 節長條型與半橢圓形混生，有或無微毛，第 8 節半橢圓形，有微毛；第 9 節後緣有 14–16 支稍長而強的突齒；觸角第 3 節最末端有一圈微毛。

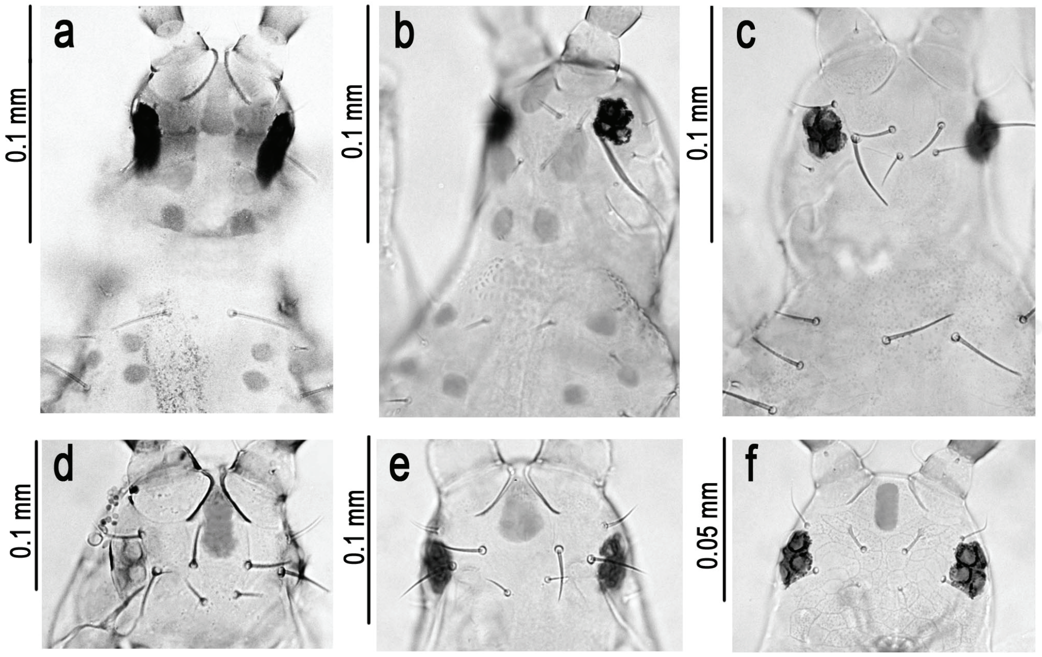


圖 4. 頭部 (或與) 前胸灰黑斑。(a) 豆花薊馬；(b) 菊花薊馬；(c) 花薊馬；(d) 蔥薊馬；(e) 青蔥薊馬；(f) 小黃薊馬。

Fig. 4. Greyish sclerotized spots on head or/and thorax. (a) *Megalurothrips usitatus* Bagnall; (b) *Microcephalothrips abdominalis* (D. L. Crawford); (c) *Thrips hawaiiensis* (Morgan); (d) *T. tabaci* Lindeman; (e) *T. alliorum* (Priesner); (f) *Sirtothrips dorsalis* Hood.

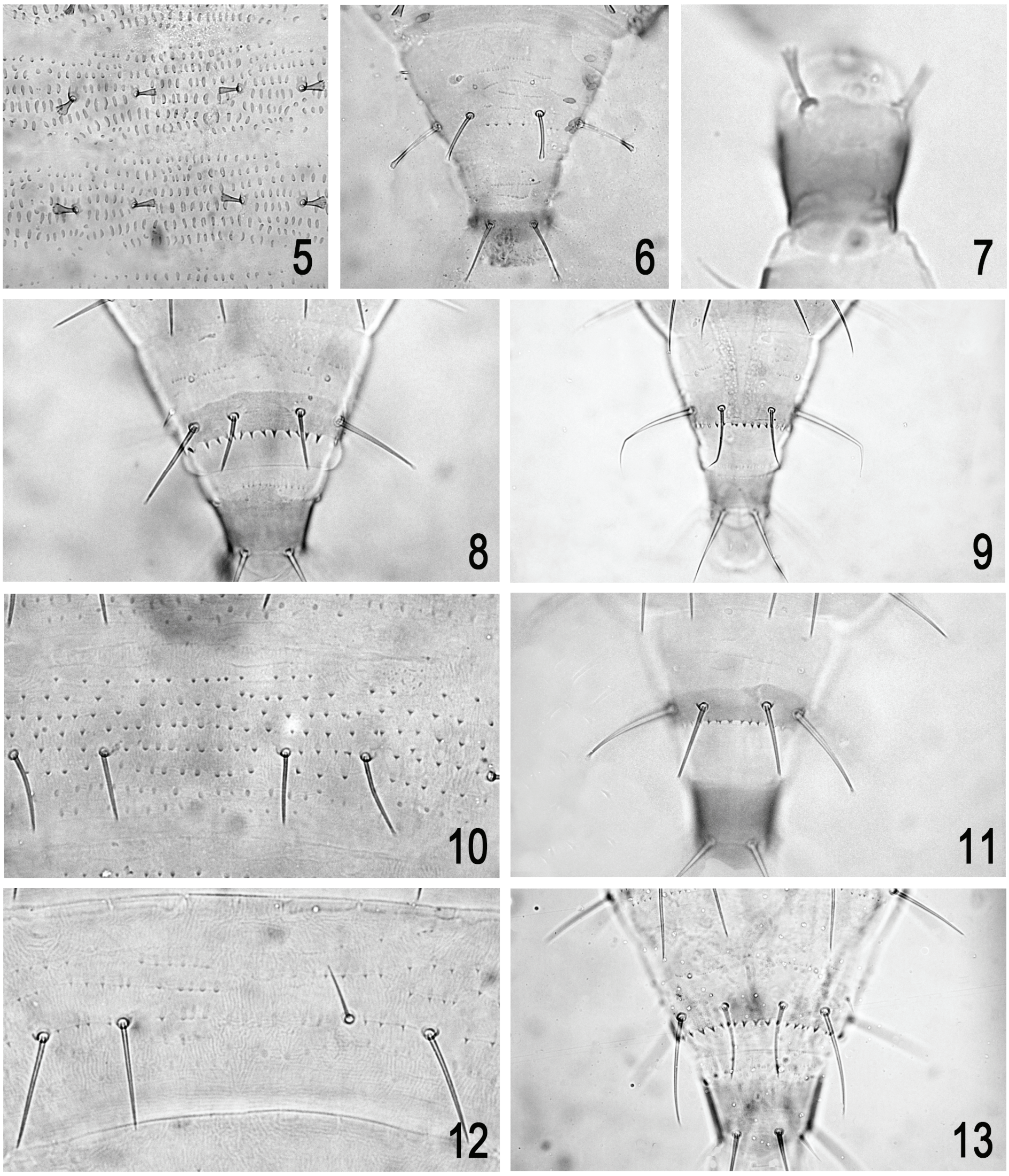


圖 5–13. 5–7 蘭花薊馬：**5.** 腹背方剛毛與皮顆排列；**6.** 腹背末端；**7.** 觸角第 2 節端部一對截狀毛；**8.** 尖角薊馬腹背末端；**9.** 玉米薊馬腹背末端；**10–11** 台灣花薊馬：**10.** 腹背之剛毛與皮顆排列；**11.** 腹背末端；**12–13** 西方花薊馬：**12.** 腹背方剛毛與皮顆排列；**13.** 腹背末端。

Fig. 5–13. **5–7** *Dicromothrips corbetti*: **5.** setae and plaques on abdominal segments; **6.** caudal part of abdomen; **7.** terminal setae on antennal segment II; **8.** *Frankliniella cephalica,* caudal part of abdomen: **9.** *F. williamsi*: caudal part of abdomen; **10–11** *F. intonsa*: **10.** setae and plaques on abdominal segments; **11.** caudal part of abdomen; **12–13** *F. occidentalis*: **12.** setae and plaques on abdominal segments; **13.** caudal part of abdomen.

標本檢查：二齡幼蟲 1 隻，台中縣霧峰鄉 (農試所)，咸豐草，2008；二齡幼蟲 5 隻，台中縣霧峰鄉 (農試所)，咸豐草，2010。

台灣花薊馬 *Frankliniella intonsa* (Trybom) (圖 10、11)

顏色：體淡黃，紅色素數量因個體而有差異，少許顆粒狀或甚多分布於全體，眼有紅色素，第 9 節末端 1/3–1/4 與第 10 節約 1/2 有黃褐的骨化區。

背表：身體主剛毛尖形，僅腹部第 9 節中對毛為平鈍形，皮顆第 1–8 節全部為半橢圓有微毛；第 9 節後緣有 14–16 支突齒，突齒在本屬薊馬中屬稍小型；觸角第 3 節最末端有一圈微毛。

標本檢查：二齡幼蟲 7 隻，彰化縣田尾鄉，菊花，2008；二齡幼蟲 1 隻，台中縣霧峰鄉 (農試所)，玫瑰，2009。

西方花薊馬 *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (圖 12、13)

顏色：體淡黃無紅色素，眼有紅色素，第 9 節末端 1/3–1/4 與第 10 節約 1/2 有黃褐色骨化區，該區前緣線模糊不清。

背表：身體主剛毛尖形，皮顆第 1–7 節長條型與半橢圓形混生，有或無微毛，第 8 節半橢圓形，有微毛；第 9 節後緣有 16–18 支突齒；觸角第 3 節最末端有一圈微毛。

標本檢查：二齡幼蟲 3 隻，美國，甘藍，2002；二齡幼蟲 2 隻，美國，萵苣，2002。

玉米薊馬 *Frankliniella williamsi* Hood (圖 9)

顏色：體淡黃無紅色素，眼有紅色素，第 9 節末端第 10 節約 1/2 有淡黃色骨化區，該區前緣線模糊不清。

背表：身體主剛毛鞭形，末端極為尖細，皮顆第 1–7 節長條型與半橢圓形混生，有或無微毛，第 8 節半橢圓形，有微毛；第 9 節後緣有約 15–16 支突齒；觸角第 3 節最末端有一圈微毛。

標本檢查：二齡幼蟲 6 隻，雲林縣二崙鄉，玉米，2010。

豆花薊馬 *Megalurothrips usitatus* Bagnall (圖 4a、14、15)

顏色：體淡黃有紅色素，眼有紅色素，頭頂中央有一灰黑區，眼周圍有 2 灰黑區，眼後兩側各有 2 灰黑圓點，前胸兩側各有 3 個灰黑圓點，第 9 節末端 1/3–1/4 與第 10 節約 1/2 有黃褐色的骨化區，該前緣線模糊不清。

背表：身體主剛毛尖形；腹部第 1–8 節之皮顆半橢圓形，有或無微毛；第 9 節後緣有約 14 支突齒；觸角第 3 節有數個微毛圈。

標本檢查：二齡幼蟲 5 隻，南投縣仁愛鄉 (清境)，豆，2009。

菊花薊馬 *Microcephalothrips abdominalis* (D. L. Crawford) (圖 4b、16、17)

顏色：體淡黃有紅色素，眼有紅色素，頭頂處有 1 個灰黑斑，眼下方有 2 灰黑區，接近頸部有 2 灰黑圓點，前胸兩側各有 3 個灰黑圓點；第 9 節末端 1/3–1/4 與第 10 節端部 1/2 有黃褐色的骨化區，該前緣線模糊不清。

背表：身體主剛毛尖形；腹部第 1–8 節之皮顆長條形，有或無微毛；第 9 節中對毛與亞中對毛均為平鈍形，後緣只兩側各有 4–5 支突齒，中央無；觸角第 3 節無微毛圈。

標本檢查：二齡幼蟲 20 隻，台中縣霧峰鄉 (六股)，蟛蜞菊，2010。

腹鉤薊馬 *Ripiphorothrips cruntatus* Hood (圖 18、19)

顏色：體淡黃，頭、胸及腹部兩側均鮮紅色，眼、觸角第一節及三足均有紅色素，頭頂中央紅色，觸角著生處之頭頂褐色骨化，腹部第 9 節兩側與第 10 節全部為黃褐色的骨化區，邊緣明顯。

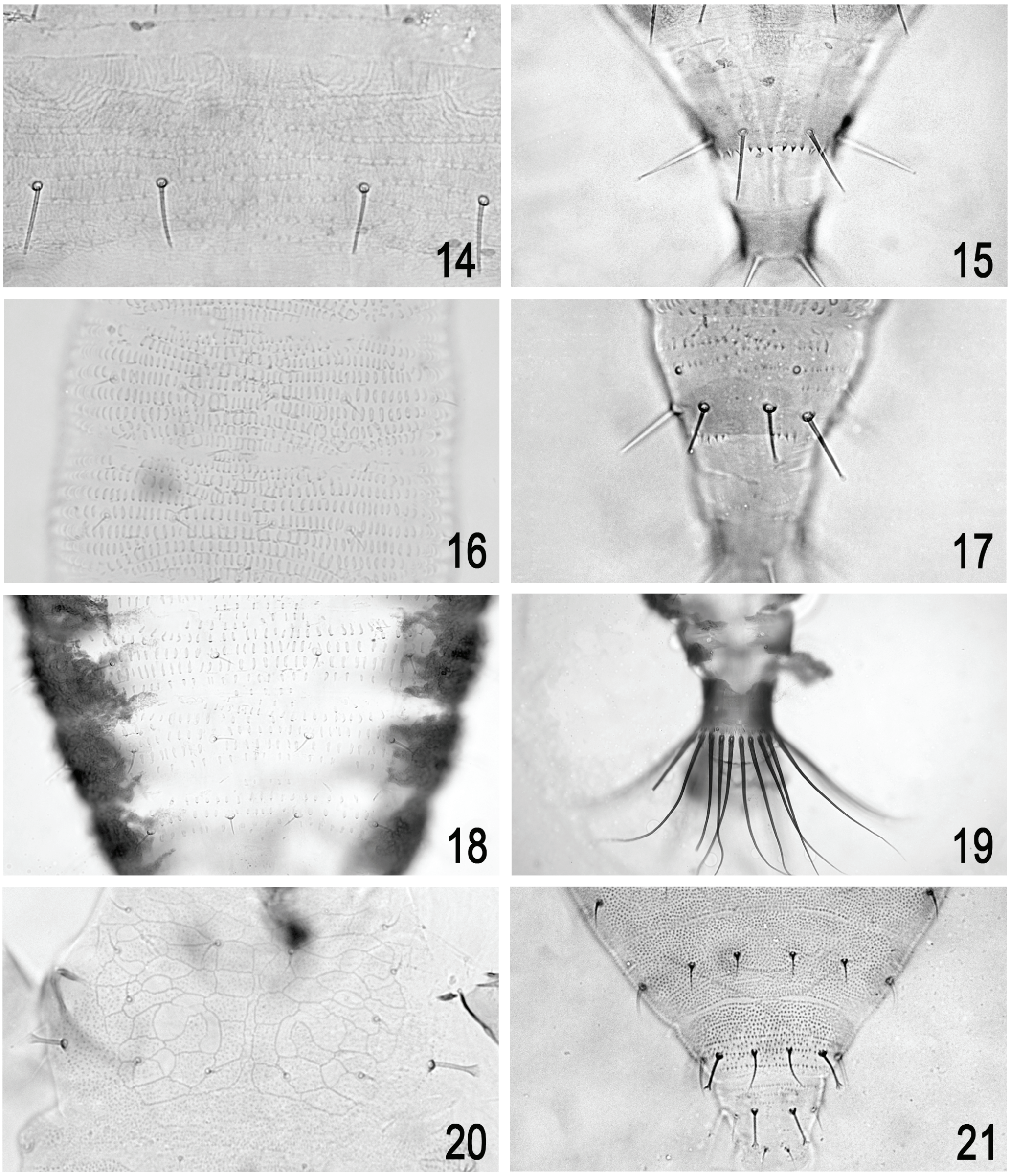


圖 14–21. 14–15 豆花薊馬：**14.** 腹背方剛毛與皮顆排列；**15.** 腹背末端；**16–17** 菊花薊馬：**16.** 腹背剛毛與皮顆排列；**17.** 腹背末端；**18–19** 腹鉤薊馬：**18.** 腹背剛毛與皮顆排列；**19.** 腹部第 10 節末端一圈長毛；**20–21** 小黃薊馬：**20.** 前胸背表面網紋與漏斗狀毛；**21.** 腹第 8–10 節背方之皮顆成點狀。

Fig. 14–21. 14–15 *Megalurothrips usitatus*: **14.** setae and plaques on abdominal segments; **15.** caudal part of abdomen; **16–17** *Microcephalothrips abdominalis*: **16.** setae and plaques on abdominal segments; **17.** caudal part of abdomen; **18–19** *Ripiphorothrips cruntatus*: **18.** setae and plaques on abdominal segments; **19.** long setae around terminal of abdominal segment X; **20–21** *Sirtothrips dorsalis*: **20.** reticulations and crateriform setae on prothorax; **21.** abdominal segments VIII–X.

背表：身體主剛毛尖形而短，皮顆在腹部第 1–6 節長方形，第 7、8 節橢圓形有微毛，第 9 節後緣無突齒，第 10 節後緣有約 20 支長剛毛，黑褐色；觸角各節細長，第 3 節無微毛圈。

標本檢查：二齡幼蟲 2 隻，台中縣霧峰鄉 (農試所)，蓮霧，2010。

小黃薊馬 *Scirtothrips dorsalis* Hood (圖 4c、20、21)

顏色：體淡黃無紅色素，眼有紅色素，頭頂中央有一灰黑區，腹末無黃褐色骨化區。

背表：頭與胸背表佈滿細網紋；頭部兩眼間之中對毛、前胸側毛、腹部第 9 節亞中對毛與第 10 節中對毛之末端呈漏斗形，身體其餘剛毛尖形；身體第 1–8 節密布細小點狀皮顆；第 9 節後緣無突齒；觸角第 2 節端部有 1 對末端呈漏斗形剛毛，第 3 節端部有二圈微毛圈。

標本檢查：二齡幼蟲 8 隻，台中縣霧峰鄉 (農試所)，芒果，2009；二齡幼蟲 1 隻台南縣玉井鄉，芒果，2010。

青蔥薊馬 *Thrips alliorum* (Priesner) (圖 4d、22、23)

顏色：體淡黃有紅色素，眼有紅色素，頭中央前方有明顯灰色區，兩眼內側前胸左右側各有一不明顯的灰色圓斑，第 9 節末端與第 10 節端部約 1/2 骨化明顯呈深褐色，且前緣線明顯。

背表：身體主剛毛尖形，腹部第 1–7 節皮顆橢圓形，大而明顯，第 8 節端部之皮顆有或無微毛；第 9 節後緣有約 15 支粗大突齒；觸角第 3 節無微毛圈。

標本檢查：二齡幼蟲 5 隻，雲林縣二崙鄉，蔥，2010。

花薊馬 *Thrips hawaiiensis* (Morgan) (圖 24、25)

顏色：體淡黃，有或無紅色素因個體而異，眼有紅色素，腹末端無黃褐色骨化區。

背表：身體主剛毛圓鈍形，腹部第 1–8 節皮顆微弱不明顯，整排之基部形成一條細橫線；第 9 節後緣有 16–20 支細小突齒；觸角第 3 節有 4 排微毛圈。

標本檢查：二齡幼蟲 6 隻，台中縣霧峰鄉 (農試所)，桂花，2008；二齡幼蟲 4 隻，台中縣霧峰鄉 (農試所)，馬櫻丹，2009。

南黃薊馬 *Thrips palmi* Karny (圖 26、27)

顏色：體淡黃無紅色素，眼部亦無紅色素，腹末端無黃褐色骨化區。

背表：身體胸部與腹部主剛毛尖形，腹部第 1–8 節皮顆成整排，半橢圓形，大多有微毛，僅各節後端者成橢圓形無微毛；第 9 節後緣有 16–20 支突齒；觸角第 3 節有 3 排微毛圈。

標本檢查：二齡幼蟲 4 隻，台中縣霧峰鄉 (農試所)，茄子，2008；二齡幼蟲 8 隻，嘉義縣新港鄉，甜椒，2010。

蔥薊馬 *Thrips tabaci* Lindeman (圖 4e、28、29)

顏色：體淡黃無紅色素，眼有紅色素，頭中央前方有灰色區，第 9 節末端部第 10 節約 1/3 骨化明顯成褐色。

背表：身體胸部與腹部主剛毛尖形，腹部第 1–8 節皮顆成整齊排列，半橢圓形，大多有微毛，各節後半部皮顆呈橢圓，微毛極小或無；第 9 節後緣有 16–20 支突齒；觸角第 3 節有 3 排微毛圈。

標本檢查：二齡幼蟲 9 隻，台中縣霧峰鄉 (農試所)，蔥，2008；二齡幼蟲 11 隻，雲林縣二崙鄉，蔥，2010。

常見薊馬二齡幼蟲檢索表 (依據幼蟲背面特徵)

1. 腹部第 10 節長筒形，觸角各節不成節圈狀，亦無微毛 ------------------------------- 管尾亞目
－ 腹部第 10 節不成長筒形，觸角至少第 3、4 節成節圈狀，並生有微毛 -------- 錐尾亞目 2

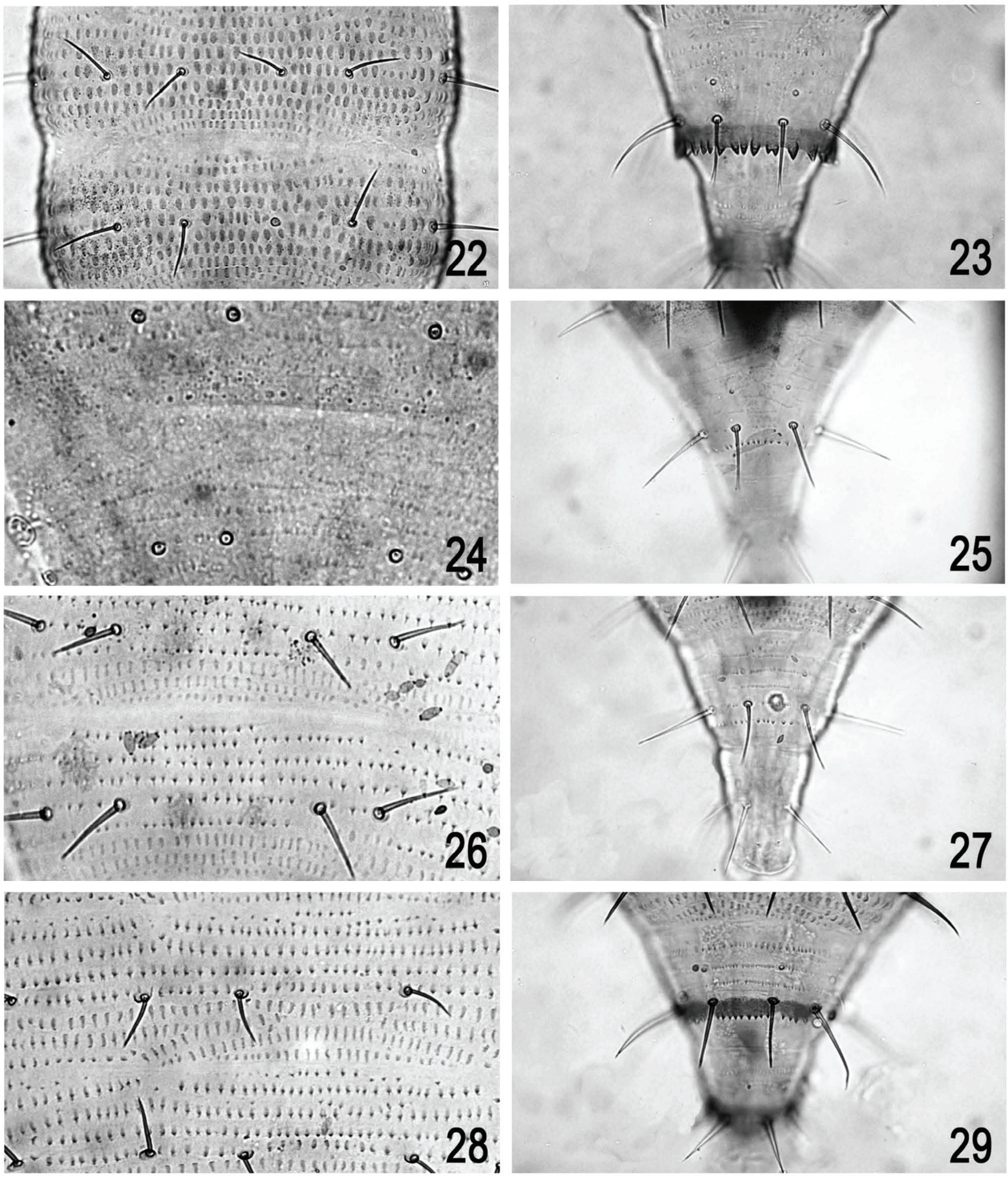


圖 22–29. 22–23 青蔥薊馬：**22.** 腹背剛毛與皮顆排列；**23.** 腹背末端；**24–25** 花薊馬：**24.** 腹背剛毛與皮顆排列；**25.** 腹背末端；**26–27** 南黃薊馬：**26.** 腹背剛毛與皮顆排列；**27.** 腹背末端；**28–29** 蔥薊馬：**28.** 腹背剛毛與皮顆排列；**29.** 腹背末端。

Fig. 22–29. 22–23 *Thrips alliorum*: **22.** setae and plaques on abdominal segments; **23.** caudal part of abdomen; **24–25** *T. hawaiiensis*: **24.** setae and plaques on abdominal segments; **25.** caudal part of abdomen; **26–27** *T. palmi*: **26.** setae and plaques on abdominal segments; **27.** caudal part of abdomen; **28–29** *T. tabaci*: **28.** setae and plaques on abdominal segments; **29.** caudal part of abdomen.

2. 腹部第 10 節後緣密生一圈粗長剛毛---------
---------------------------腹勾薊馬 *R. cruntatus*
－ 腹部第 10 節後緣無此圈狀剛毛--------------3
3. 頭、胸、腹部所有主剛毛均粗，末端呈截角狀 --------------------------蘭花薊馬 *D. corbetti*
－ 並非所有主剛毛均粗，至少有數對尖毛 ---4
4. 頭、前胸及腹部背表第 9、10 節剛毛漏斗形
------------------------------小黃薊馬 *S. dorsalis*
－ 頭、前胸及腹部背表第 9、10 節剛毛其它形狀 ---5
5. 腹部第 9 節後緣突齒只兩側有，中央缺 ----
------------------------菊花薊馬 *M. abdominalis*
－ 腹部第 9 節後緣中央有突齒，或完全無突齒
--6
6. 頭及前胸背表各有多數灰黑區塊或斑點 ----
----------------------------- 豆花薊馬 *M. usitatus*
－ 頭背有或無灰黑區，前胸無任何灰黑區或斑
--7
7. 腹部第 9 節背表骨化區較長，前緣在 2 對後緣毛著生位置之前；第 10 節背表皮全部骨化 ----------------------8 花薊馬屬 *Frankliniella*
－ 腹部第 9 節背表骨化區域較短或無，如有，其前緣在 2 對後緣毛著生點上或在其後；第 10 節背表骨化區無或僅在末端部-------------
--------------------------------- 11 薊馬屬 *Thrips*
8. 腹部第 9 節中對毛短，長度與 2 支中對毛著生距離相等 ---
---------------------------尖角薊馬 *F. cephalicus*
－ 腹部第 9 節中對毛長，長度約為 2 支中對毛著生距離 1.5 倍 -------------------------------- 9
9. 腹部第 9 節 2 對主剛毛均為鞭型，末端尖細
-----------------------------玉米薊馬 *F. williamsi*
－ 腹部第 9 節亞中對毛尖型，末端較短；中對毛尖型或鈍型 ---------------------------------- 10
10.腹部第 9 節中對毛尖型 -------------------------
--------------------- 西方花薊馬 *F. occidentalis*
－ 腹部第 9 節中對毛鈍型 -------------------------
----------------------------台灣花薊馬 *F. intonsa*
11.第 9、10 節有褐色骨化區 ------------------- 12
－ 第 9、10 節無褐色骨化區-------------------- 13
12.腹部第 1–7 節皮顆橢圓形 ----------------------
----------------------------- 青蔥薊馬 *T. alliorum*
－ 腹部第 1–7 節皮顆半橢圓形--------------------
---------------------------------- 蔥薊馬 *T. tabaci*
13.腹部第 1–7 節皮顆半橢圓形而明顯 ----------
---------------------------------南黃薊馬 *T. palmi*
－ 腹部第 1–7 節皮顆微弱而不明顯--------------
---------------------------- 花薊馬 *T. hawaiiensis*

討　　論

本報告共描述 13 種薊馬幼蟲之形態，提供薊馬幼蟲鑑定之基礎資料。在試驗期間採集幼蟲標本時，採得的種類不止於此，唯對於只以單隻或極少數存在之個體，或數種混雜存在的種類，因無法判別每一幼蟲種類，以致無法應用於本研究。

薊馬的變態 (metamorphosis) 甚為特殊，介於漸進 (gradual) 變態與完全 (complete) 變態之間。曾有研究顯示自幼蟲、蛹至成蟲歷經顯著的組織與生理變化 (Morize 1995, 1997)，比較偏向於完全變態，學術界基於習慣也多稱不成熟期為幼蟲 (Grimaldi & Engel 2005)。在化蛹過程中，自幼蟲期至前蛹期外形變化緩慢漸進，幼蟲先經過前蛹期，然後進入蛹期，二齡幼蟲與前蛹期個體主要分辨是：幼蟲觸角前伸，可自由活動；前蛹期觸角向頭背伏貼不動。本研究以二齡幼蟲為對象，鑑定時須注意不要誤用一齡幼蟲或前蛹期個體，因其剛毛數目與

大小、形狀等都不盡相同，如誤認為二齡幼蟲，會產生鑑定上的困難與混淆。

本次所研究的薊馬幼蟲包括 6 屬，其中除花薊馬屬與薊馬屬各有 4 種外，其餘 4 屬均各只有一種為代表。不同屬間特徵差異較大故較易區分，而同一屬內的不同種則共同特徵較多，須以較細微的特徵做區辨。本文為農業上經常遇見的薊馬，如果要區分較不常見的薊馬種類，則會顯得資料尚有不足，相信日後累積更多資料，對於薊馬幼蟲特徵會有更深認識，則幼蟲鑑定的應用性會更廣。

無論任何類群的昆蟲，有相當數量的個體與種類，累積足夠的資料，才能依其特徵並衡諸其生態、習性等歸納、分析出不同種類間的關係，目前薊馬幼蟲分類學於國內外資料尚屬匱乏，需要繼續努力，匯集點滴而成河海，期望日後能在薊馬幼蟲分類上，做出更具體的成果。

引用文獻 (Literature cited)

Brunner, P. C., C. Fleming, and J. E. Frey. 2002. A molecular identification key for economically important thrips species (Thysanoptera: Thripidae) using direct sequencing and a PCR-RFLP-based approach. Agric. Forest Entomol. 4:127–136.

Grimaldi, D. A. and M. S. Engel. 2005. Evolution of the Insects. Cambridge Univ. Press. 735 pp.

Huang, K. S., S. E. Lee, Y. Yeh, G. S. Shen, E. Mei, and C. M. Chang. 2010. Taqman real-time quantitative PCR for identification of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*) for plant quarantine. Biol. Lett. Published online 3 February 2010.

Kirk, W. D. J. 1987. A key to the larvae of some common Australian flower thrips, with a host-plant survey. Aust. J. Zool. 35:173–185.

Kucharczyk, H. 2004. Larvae of the genus *Thrips*-morphological features in taxonomy. Acta Phytophthol. et Entomol. Hungarica 39:211–219.

Lin, J. S., W. B. Yeh, and C. L. Wang. 2003. Molecular Identification of Multiplex-PCR and PCR-RFLP for the quarantine pest, *Frankliniella occidentalis* (Pergande). Formosan Entomol. 23:353–366. (in Chinese with English abstract)

Liu, Y. C. 2004. Molecular identification of a plant quarantine pest (*Frankliniella occidentalis*) by one-tube nested PCR targeting ribosomal DNA internal transcribed spacer regions. Plant Prot. Bull. 46:27–46. (in Chinese with English abstract)

Mainali, B. P., S. Shrestha, U. T. Lim, and Y. Kim. 2008. Molecular markers of two sympatric species of the genus *Frankliniella* (Thysanoptera: Thripidae). J. Asia-Pacific Entomol. 11:45–48.

Miyazaki, M. and I. Kudo. 1986. Descriptions of thrips larvae which are noteworthy on cultivated plants. I. Species occurring on Solanaceous and Cucurbitaceous crops. AKITU, new series 79:1–26.

Miyazaki, M. and I. Kudo. 1989. Descriptions of thrips larvae which are noteworthy on cultivated plants. II. *Pseudodendrothrips mori* (Niwa). Appl. Entomol. Zool. 24:209–212.

Moritz, G. 1995. Morphogenetic development of some species of the order Thysanoptera. p.489–504. *in*: Thrips Biology and Management. (Parker, B. L., M. Skinner, and T. Lewis, eds.) NATO ASI Series, Plenum Press. NY and London.

Moritz, G. 1997. Structure, growth, and development. p.5–63. *in*: Thrips as Crop Pests. (Lewis, T., ed.) CAB International. UK.

Moritz, G., C. Delker, M. Paulsen, L. A. Mound, and W. Burgermeister. 2000. Modern methods for identification of Thysanoptera. Bulletin 30:591–593.

Nakahara, S. and G. Vierbergen. 1998. Second instar larvae of *Frankliniella* species in Europe. p.113–120. *in* the Proceeding of 6th International Symposium on Thysanoptera. Akdeniz Univ. Pub. Antalya, Turkey.

Speyer, E. R. and W. J. Parr. 1941. The external structure of some Thysanoptera larvae. Trans. R. Entomol. Soc. Lond. 91:559–635.

Toda, S. and S. Komazaki. 2002. Identification of thrips species (Thysanoptera: Thripidae) on Japanese fruit trees by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism of the ribosomal ITS2 region. Bull. Entomol. Res. 92: 359–363.

Walsh, K., N. Boonham, I. Barker, and D. W. Collins. 2005. Development of a sequence-specific real-time PCR to the melon thrips *Thrips palmi* (Thysan., Thripidae). J. Appl. Entomol. 129:272–279.

Wang, C. L. 2002. Thrips of Taiwan: Biology and Taxonomy. Taiwan Agric. Res. Inst. Pub. No. 99. Taichung. 328 pp. (in Chinese)

Wang, C. L. and M. Y. Hsu. 1996. Morphological characteristics, development and fecundity of *Haplothrips chinensis* Priesner. Plant Prot. Bull. 38:191–202. (in Chinese with English abstract)

Wang, C. L. and M. Y. Hsu. 2007. Important Thrips of Agricultural Plants. Taiwan Agric. Res. Inst. Pub. No. 131. Taichung. 155 pp. (in Chinese)

行政院農業委員會農業試驗所
TAIWAN AGRICULTURAL RESEARCH INSTITUTE
1895

Morphological Identification of Thrips Larvae (Insecta: Thysanoptera)[1]

Feng-Chyi Lin[2,3], Yi-Chung Chiu[2], Meng-Yu Hsu[2], and Chin-Ling Wang[2]

Abstract

Lin, F. C., Y. C. Chiu, M. Y. Hsu, and C. L. Wang. 2010. Morphological identification of thrips larvae (Insecta: Thysanoptera). J. Taiwan Agric. Res. 59:151–164.

Morphological characteristics of second instar larvae of suborder Terebrantia were studied for species identification. Twelve common agricultural thrips belonging to six genera which include *Dicromothrips corbetti* (Priesner), *Frankliniella cephalica* (Crawford), *F. intonsa* (Trybom), *F. williamsi* Hood, *Megalurothrips usitatus* Bagnall, *Microcephalothrips abdominalis* (D. L. Crawford), *Ripiphorothrips cruntatus* Hood, *Scirtothrips dorsalis* Hood, *Thrips alliorum* (Priesner), *T. hawaiiensis* (Morgan), *T. palmi* Karny, *T. tabaci* Lindeman and the quarantine thrips *F. occidentalis* (Pergande) were examined. Larvae of these species can be separated by their body color, size and shape of setae, presence of microtrichia, structure of plaques on integument, marginal processes on abdominal segment IX, and shape of sclerotised areas.

Key words: Thysanoptera, Thrips, Larva, Morphology, Identification.

---

1. Contribution No. 2410 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: September 14, 2010.
2. Respectively, Associate Entomologist, Assistant Entomologist, Assistant, and Senior Entomologist and Director, Applied Zoology Division, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Corresponding author, e-mail: fclin@tari.gov.tw; Fax: (04)23317600.

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 59(3):165–176 (2010)

利用莖節培養誘導多倍體台灣金線連之研究[1]

夏奇鈮[2,5] 黃健覃[3] 陳威臣[2] 曹進義[2] 梁淑惠[2] 蔡新聲[4]

摘　要

夏奇鈮、黃健覃、陳威臣、曹進義、梁淑惠、蔡新聲。2010。利用離體培養莖節誘導多倍體台灣金線連之研究。台灣農業研究 59:165–176。

台灣金線連 (*Anoectochilus formosanus* Hayata) 為台灣特有種，亦為本土重要之草藥。為育種之目的，本研究以微體繁殖之瓶苗莖節為培植體，評估不同抗微管藥劑 (antimicrotubule chemicals)、秋水仙素濃度與處理時間、以及秋水仙素與細胞分裂素 BA 處理配合的程序對多倍體誘導的影響，處理後長出之芽體並以流式細胞儀檢測其染色體之倍體數。莖節培植體在含有秋水仙素、歐拉靈及三福林 25 μM、100 μM 及 400 μM 三種濃度之液體增殖培養基中培養 2 週，發現多倍體誘導比率以 400 μM 秋水仙素最高，但存活之植株數最少。莖節培植體在含有 0.625–6.25 mM 秋水仙素之液體增殖培養基中培養 3 天，結果顯示除 6.25 mM 濃度處理之芽體生長受抑制外，各濃度皆可誘導多倍體的產生，其中以 2.5 mM 誘導率最高，達 80%。以 2.5 mM 秋水仙素測試處理時間 3–9 天之影響，顯示處理時間長於 3 天，嚴重抑制培植體的生長，芽體平均成活率皆低於 30%。將莖節進一步區分為頂芽及頂芽下一節之節芽作為培植體，以 2.5 mM 秋水仙素縮短處理時間為 1–3 天，發現節芽的生長在不同處理天數皆受到抑制，但頂芽處理 2 天組多倍體誘導率可達 100%。將處理時間固定為 3 天，以 0.625–6.25 mM 濃度之秋水仙素分別處理頂芽及節芽，結果顯示以 1.25 mM 處理之頂芽多倍體誘導率最高，達 88.9%；濃度 0.625 mM 處理之頂芽雖然誘導率較低 (66.2%)，但芽體存活率較高，獲得之多倍體株數亦最高。比較培植體在施用秋水仙素前，先以含有 BA 的增殖培養基進行預培養；或在施用秋水仙素之後，再於含有 BA 之增殖培養基中培養。兩種處理程序中，培植體於秋水仙素處理及增殖培養基中，培養的時間皆相同，但前者之嵌合體比例僅 6.4%，而後者為 23%。綜合本研究之結果，以微體繁殖台灣金線連之莖節進行多倍體誘導，以頂芽較節芽為佳；以較低之秋水仙素 0.625 濃度處理頂芽 3 天，可保持芽體之再生力，多倍體的誘導率最高可達 161% (129 株多倍體/80 個頂芽)，是一種高效率的多倍體誘導方式。

關鍵詞：金線連、抗微管藥劑、秋水仙素、倍數體、流式細胞儀。

---

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2411 號。接受日期：99 年 9 月 23 日。
2. 本所生物技術組副研究員、助理研究員、聘用助理研究員、計畫助理。台灣 台中縣 霧峰鄉。
3. 國立中興大學農藝學研究所研究生。台灣 台中市。
4. 朝陽大學生化科技研究所教授。台灣 台中縣 霧峰鄉。
5. 通訊作者，電子郵件：hsia@tari.gov.tw；傳真機：(04) 23302806。

前　言

台灣金線連 (*Anoectochilus formosanus* Hayata) 為蘭科、金線連屬多年生草本植物，是台灣民間極為珍貴之藥材，因面臨抗病種原缺乏且育種所需時間過長的限制，亟思以雜交育種以外之方式克服此一問題 (Huang 2007)。多倍體主要是指相對正常染色體數目 (2n = 2x) 倍加之植株，一般多倍體具有之特徵為增大的植物營養器官 (Osborn *et al.* 2003)；可克服雜交不親合性 (Adaniya & Shirai 2001)；生產無子三倍體 (Poehlman 1987)；以及提高植物二次代謝物產量與增加植物對逆境之抗性 (Gao *et al*. 1997)。考察目前台灣金線連種苗商業生產模式，一般皆以組織培養進行種苗大量繁殖，主要以野生或人工授粉之果莢進行無菌播種生產實生苗，此法具有數量上之優勢，但種子經由雜交授粉而來，子代具有較大之差異性 (Shiau *et al.* 1995)；或以金線連植株之莖段為培植體，於添加植物生長調節劑之固態或液態培養基中進行繁殖 (Chang 1999)，此法可針對優良母本加以保存，種苗之整齊性高，缺點為繁殖倍率較前法為低。利用台灣金線連無菌播種之根莖 (rhizome) 作為多倍體誘導之材料，已證實具有良好成效 (Hsia *et al.* 2009)，但若無法取得適當發育期之根莖，或目的為保存母株優良特性，則可利用離體培養瓶苗之莖節作為多倍體誘導之材料。此外，秋水仙素雖是染色體倍加最常用之藥劑，但亦有報告指出，其他抗微管藥劑 (antimicrotubule chemical) 如歐拉靈 (oryzalin)、三福林 (trifluralin) 與秋水仙素 (colchicine) 相較，對於培植體生長的抑制作用較小 (Hansen *et al*. 1998; Kermani *et al*. 2003)。本研究以台灣金線連微體繁殖瓶苗之莖節作為培植體，除評估不同抗微管藥劑及其濃度對多倍體誘導之效果外，並探討秋水仙素的使用濃度與處理時間、以及秋水仙素與含有 benzyladenine (BA) 之增殖培養基配合使用的程序，對於誘導台灣金線連產生多倍體之影響。

材料與方法

植物材料及離體培養方法

台灣金線連一年生之實生瓶苗 (購自有容生技公司，埔里)，每 3 個月以固體健化培養基繼代 1 次，莖節培植體取自瓶苗植株。頂芽及節芽比較試驗所用之培植體，為農業試驗所自行授粉無菌播種經繼代多次之瓶苗。液體增殖培養基成份為 1/2 MS 基本鹽類配方 (Murashiage & Skoog 1962) 添加 2 mg/L benzyladenine (BA)、0.5 mg/L α-naphthaleneacetic acid (NAA)、3%蔗糖 (Chang 1999)。培養容器為 125 mL 三角瓶，每瓶裝 10 mL 培養基，以 70–90 rpm 震盪速率培養。固體健化培養基成分與液體增殖培養基相同，但未添加植物生長調節劑，且另添加 30 g/L 馬鈴薯泥、50 g/L 香蕉泥、1 g/L 活性碳粉及 9 g/L Bacto agar，培養基 pH 調整為 5.7 ± 0.1。培養容器為 500 mL 蘭花瓶，內裝 100 mL 培養基。培養環境為 (25 ± 1)℃、光照強度 30–35 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$，每日 14 小時光照。

抗微管藥劑溶液配製，秋水仙素 (Sigma, USA) 先以少量乙醇溶解後再以無菌水稀釋成母液；歐拉靈 (Supeco, USA) 與三福林 (Supeco, USA) 則以 100% dimethyl sulfoxide 溶解後再以無菌水稀釋，配製完成之溶液在加入培養基前皆以 0.22 μM 微過濾膜過濾。

不同抗微管藥劑處理

切取瓶苗之莖節段 (不分頂芽及節芽)，培養於含有 25 μM、100 μM 及 400 μM 三種濃度之秋水仙素、歐拉林和三福林液體增殖培養基中，2 週後繼代於固體健化培養基，之後每 4 週繼代 1 次，芽體成活率於繼代後 4 週調查，芽體長度則於繼代後 8 週調查。每一處理 5 瓶，每瓶置 5 個節段，每一節段含有 3 個節芽。

秋水仙素濃度處理

莖節段 (不分頂芽及節芽) 培植體培養於含有 0、0.625、1.25、2.5 及 6.25 mM 秋水仙素之液體增殖培養基中，3 天後繼代於不含秋水仙素之液體增殖培養基續培養 2 週，此後培養於固體健化培養基，每 4 週繼代 1 次。芽體增殖率及芽體長度於處理後 10 週調查。每一處理 10 瓶，每瓶置 3 個節段，每一節段含有 3 個節芽。

秋水仙素處理時間

莖節段 (不分頂芽及節芽) 培植體於含有 2.5 mM 秋水仙素之液體增殖培養基中，培養時間分別為 3、6 及 9 天，之後繼代於固體健化培養基。芽體增殖率及芽體長度於處理後 8 週調查。每一處理 6 瓶，每瓶置 5 個節段，每一節段含 3 個節芽。

秋水仙素濃度處理對頂芽及節芽培植體之影響

將瓶苗之頂芽及其下的節芽 (各約 1 cm 長) 加以區分，兩種培植體分別培養於含有 0.625、1.25、2.5 mM 秋水仙素之液體增殖培養基中 3 天，之後繼代於固體健化培養基，此後每 4 週繼代 1 次。每一處理 8 瓶，每瓶置 10 個培植體。處理後 8 週進行調查。

秋水仙素處理時間對頂芽及節芽培植體之影響

將頂芽及節芽培植體於含 2.5 mM 秋水仙素之液體增殖培養基中分別 1、2 及 3 天，繼代及調查方式同前所述。

BA 配合秋水仙素處理之先後程序

處理一為頂芽培植體於不含生長素之液體培養基中培養 3 天後，移入含 2.5 mM 秋水仙素及 2 mg/LBA 之液體增殖培養處理 1 天，之後繼代於液體增殖培養基中 3 天；處理二為頂芽培植體先於含有 2 mg/LBA 之液體增殖培養基中培養 3 天，再繼代含秋水仙素及 BA 之液體增殖培養處理 1 天，之後繼代於不含植物生長調節劑之液體培養基中培養 3 天。兩組處理在含有 BA 增殖培養基中皆為 4 天 (其中 1 天為秋水仙素處理)，在不含植物生長調節劑液體培養基中亦皆培養 3 天，並同時在第 7 天繼代於固體健化培養基。每一處理 5 瓶，每瓶置 20 個頂芽培植體，調查工作同前所述。

染色體的倍體數分析

在新芽之第一片葉展開後切取約 1 cm^2 葉片，加入 0.2 mL UV CyStain Precise T 萃取緩衝液 A (Partec, Germany)，以刀片將組織切碎過濾，再於濾液中添加 0.8 mL Partec Cystain Precise T 緩衝液 B，靜置染色 3 分鐘後以流式細胞儀 (Partec PA, Germany) 檢測。每個芽體取樣 2 次，每一樣品檢測之細胞核數為 5000 個。

統計分析

試驗資料先進行變方分析 (analysis of variance, ANOVA)，若處理間差異顯著，再進行最小顯著差異性測驗 (least significant difference, LSD) 比較各處理平均值間之差異性；其中培植體存活率調查資料，在進行上述統計分析之前先經 sin^{-1} 角度轉換。本研究各項分析工作係利用 SAS 統計分析套裝軟體進行。

結　　果

台灣金線連瓶苗莖節段培植體於 25 μM、100 μM 及 400 μM 三種濃度之秋水仙素、歐拉靈及三福林液體培養基中共培養 2 週，3 種藥劑配合 3 種濃度總共 9 種處理及對照組之結果如表 1 所示。與對照組相較，所有藥劑處理對於芽體的增殖與生長 (芽長度) 皆有不良影響 ($p < 0.05$) (表 1)，其中以 25 μM 秋水仙素及 25 μM、100 μM 歐拉靈對芽體增殖及生長影響較小。處理中除 25 μM 三福林之培植體受感染及 100 μM 濃度秋水仙素無存活之芽體可供調查外，流式細胞儀檢測各處理之多倍體比率介於

5.6–100%之間，以 400 µM 秋水仙素組最高 (100%)，但僅獲得 3 株倍數體 (處理總芽數為 75)；其次為 100 µM 三福林處理之 27.8%，共獲得 5 株多倍體。流式細胞儀各種倍體數之圖譜如圖 1 所示，嵌合體大多為 2x 與 4x 之混合體。

以含有 0–6.25 mM 秋水仙素之液體增殖培養基處理莖節段培植體 3 天，在 10 週後調查各處理之存活率介於 57–100%之間 (表 2)，但觀察芽體隨著秋水仙素濃度提高，生長受到不同程度之抑制，如芽體僅至隆起階段但停滯生長或逐漸褐化死亡 (圖 2)。成活植株經抽樣檢測，顯示多倍體誘導比率隨著秋水仙素濃度的增加而提高 (8.3–80%)，以 2.5 mM 處理之多倍體誘導比率最高，達 80%，且未有嵌合體出現 (表 2)，而 6.25 mM 濃度處理之芽體生長受嚴重抑制，無展開之葉片可供進行流式細胞儀檢測。

以 2.5 mM 濃度秋水仙素測試延長處理時間 (3–9 天) 對多倍體誘導之影響，結果顯示處理時間增至 3 天以上時，莖節培植體之成活率、新芽增殖與生長 (每個培植體產生之芽體數及芽長度) 與對照組相較皆明顯降低 (p < 0.05)，且隨著處理時間增加而降低，但因處理內個別差異大，3 日以上之各處理間，在統計上之差異並不顯著 (表 3)。由多倍體誘導之結果來看，3 天處理組共有 8 株存活，其中 4 株為多倍體；6 天處理組僅 2 株培植體存活，但皆為多倍體；處理 9 天組則未有芽體生長。

將莖節段區分為頂芽及節芽兩種培植體，以 2.5 mM 秋水仙素處理 1–3 天，結果顯示雖然頂芽與節芽兩種培植體之成活率 (於處理後第 4 週調查) 差異並不顯著 (p > 0.05) (表 4)，但隨著培養時間增長，節芽生長明顯受抑制，在 3 種時間處理中皆未有葉片長出，因此無法提供流式細胞儀染色體檢測之數據。頂芽培植體的多倍體誘導率介於 25–100%之間，以 2 天處理之比率最高，達 100% (5 株)，但多倍體總株數以 3 天處理組最高 (7 株)。

表 1. 台灣金線連莖節於固態培養基中施用不同抗微管藥劑及其濃度二週對芽體生長及多倍體誘導之影響

Table 1. Effect of antimicrotubule chemicals and its concentration for 2-week exposure in a liquid medium on shoot growth and polyploidy induction of *A. formosanus in vitro* nodal explants

Chemical	Con. (µM)	No. of shoots/ explant [z]	Shoot length (cm) [y]	No. of survival plants	Polyploidy (%)				
					2C	3C	4C	8C	Chimera
Control	0	1.04 a [x]	1.60 a	10	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Colchicine	25	0.53 b	1.14 b	15	73.3	13.3	0.0	0.0	13.3
	100	0.09 d	0.54 d	0	–	–	–	–	–
	400	0.07 d	0.46 d	3	0.0	0.0	67.0	33.0	0.0
Oryzalin	25	0.47 b	1.26 b	11	81.8	0.0	9.1	0.0	9.1
	100	0.51 b	1.14 b	18	83.3	0.0	0.0	5.6	11.1
	400	0.29 c	0.76 c	47	87.2	2.1	6.4	0.0	4.3
Trifluralin	25	– [w]	–	–	–	–	–	–	–
	100	0.35 c	0.92 c	18	66.7	0.0	27.8	0.0	5.6
	400	0.27 c	0.94 bc	28	64.3	0.0	14.3	0.0	21.4

[z] Mean number of shoots per nodal section collected 4-week-culture after treatment.
[y] Data collected 8-week-culture after treatment.
[x] Means in a column with different letters are significantly different (p < 0.05).
[w] Explants were contaminated after treatment.

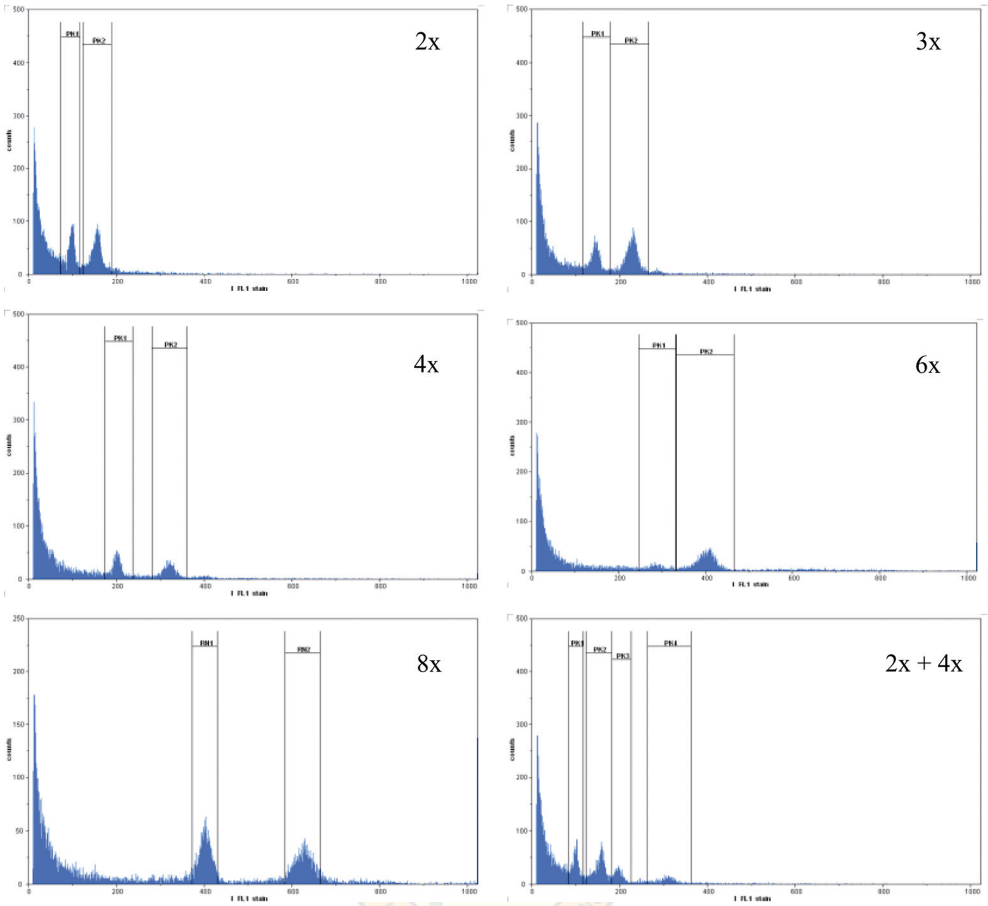


圖 1. 台灣金線連以流式細胞儀分析 2x、3x、4x、6x、8x 和 2x + 4x 各種倍數體之圖譜。

Fig. 1. Flow cytometric histograms of 2x, 3x, 4x, 6x, 8x and 2x + 4x ploidy of *A. formosanus* Hayata plantlets.

表 2. 秋水仙素濃度於液體培養基處理 3 天對台灣金線連瓶苗莖節多倍體誘導之影響

Table 2. Effects of colchicine concentration for 3-day exposure in a liquid culture on polyploidy induction of *A. formosanus in vitro* nodal explants

Colchicine (μM)	Survival rate [z] (%)	No. of analyzed shoots	Polyploidy (%)				
			2C	4C	7C	8C	Chimera
0	100 a [y]	10	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.625	85.5 ab	24	83.3	8.3	0.0	0.0	8.3
1.25	78.8 abc	10	40.0	20.0	0.0	0.0	40.0
2.5	65.5 bc	10	20.0	20.0	10.0	50.0	0.0
6.25	56.6 c	0	— [x]	—	—	—	—

[z] Data collected 8-week-culture after treatment. Data was transformed using $\sin^{-1}$ transformation before statistical analysis.
[y] Means in a column with different letters are significantly different ($p < 0.05$).
[x] No expansion leaf was found on shoots for analysis.

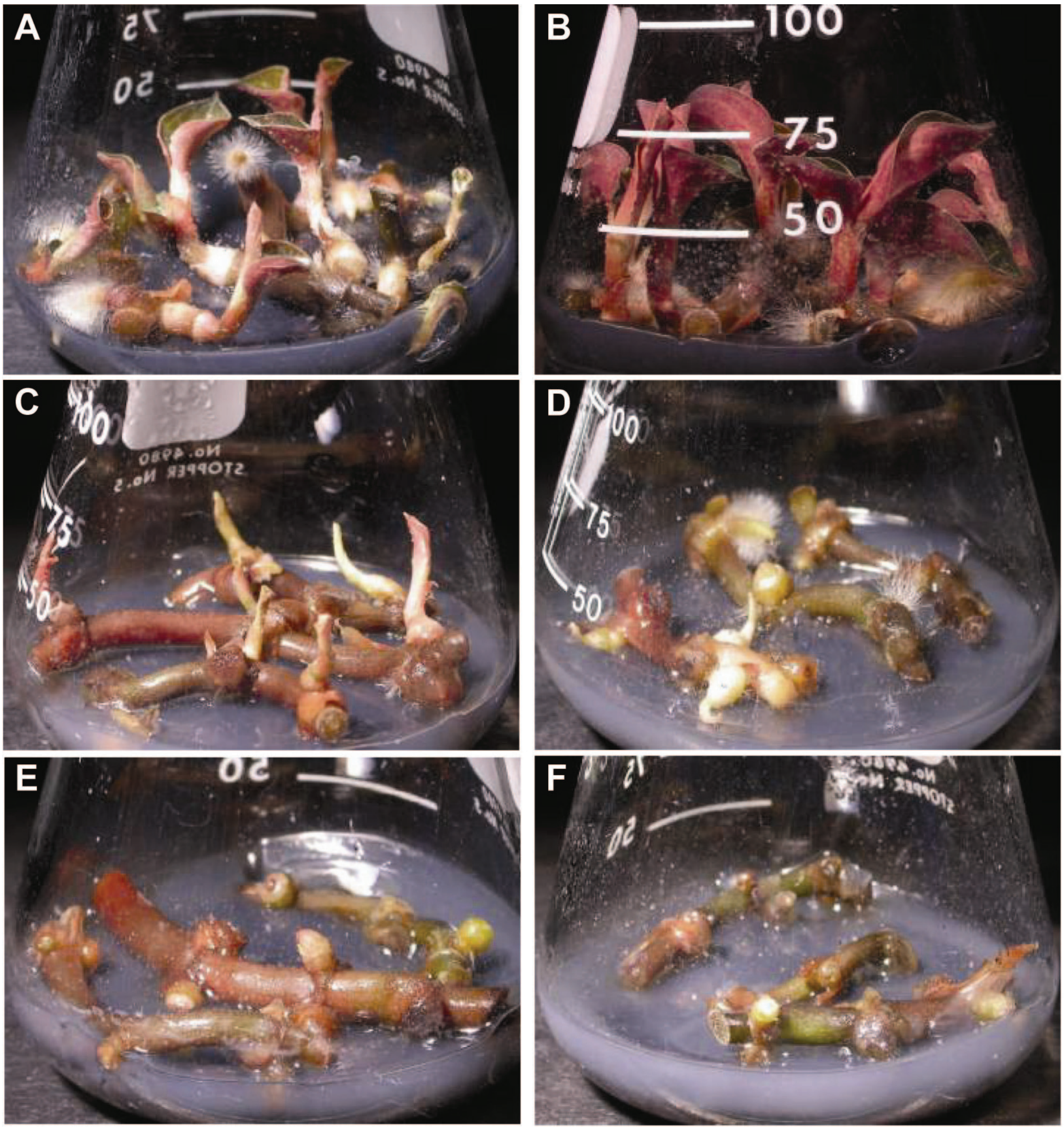


圖 2. 台灣金線連莖節培植體以不同濃度秋水仙素處理 3 天，在處理後 6 週芽體生長之情形。(A) 對照組；(B) 對照組 (處理後 10 週)，芽體伸長且新葉展開；(C) 0.625 mM 秋水仙素處理，可見芽體伸長但葉未展開；(D、E 及 F) 依序為 1.25、2.5 和 6.25 mM 秋水仙素之處理，芽體生長有不同程度之停滯。

Fig. 2. Growth of *in vitro* nodal explants of *A. formosanus* for six weeks of culturing after colchicine treatment. (A) control, shoots elongated with expanded leaves; (B) control shoot grew 10 weeks after treatment; (C) treatment of 0.625 mM colchicine, with elongated shoots only; (D, E, and F) treatments of 1.25, 2.5 and 6.25 mM, respectively. Shoot with different levels of growth retardation.

表 3. 以含有 2.5 mM 秋水仙素之液體培養基處理台灣金線連莖節不同天數對芽體存活及多倍體誘導之效果

Table 3. Effects of exposure duration of 2.5 mM colchicine in a liquid medium on shoot growth and polyploidy induction of *A. formosanus in vitro* nodal explants

Exposure duration (d)	Survival rate [z] (%)	No. of shoots/explant	Length of shoot (cm)	No. of analyzed shoots	Polyploid (%)		
					2C	4C	6C
0	100.0 a [y]	1.10 a	1.05 a	10	100.0	0.0	0.0
3	50.0 b	0.38 b	0.07 b	8	50.0	50.0	0.0
6	28.9 b	0.28 b	0.04 b	2	0.0	50.0	50.0
9	20.0 b	0.21 b	0.07 b	0	– [x]	–	–

[z] Data was collected 8-week-culture on acclimatization medium. Data was transformed using $\sin^{-1}$ transformation before statistical analysis.
[y] Means in a column with different letters are significantly different ($p < 0.05$).
[x] No expansion leaf was found on shoots for analysis.

表 4. 以含有 2.5 mM 秋水仙素之液體培養基處理台灣金線連頂芽及節芽培植體不同時間對多倍體誘導之影響

Table 4. Effect of exposure duration of 2.5 mM colchicine in a liquid culture on polyploidy induction of *A. formosanus in vitro* shoot tip and nodal explants

Exposure duration (d)	Type of explant	Survival rate (%) [z]	No of analyzed shoots	Polyploid (%)		
				2C	4C	Chimera
1	tip	46.4 ab [y]	20	40.0	25.0	35.0
	nodal	55.3 a	– [x]	–	–	–
2	tip	22.8 b	5	0.0	100.0	0.0
	nodal	28.0 b	–	–	–	–
3	tip	34.6 ab	21	52.4	33.3	14.3
	nodal	40.6 ab	–	–	–	–

[z] Data was collected 8 weeks after subculture on the acclimatization medium. Data was transformed using $\sin^{-1}$ transformation before statistical analysis.
[y] Means in a column with different letters are significantly different ($p < 0.05$).
[x] No expansion leaf was found on shoots for analysis.

將頂芽及其下之節芽培養於 0.625–2.5 mM 不同濃度之秋水仙素液體增殖培養基中 3 天，結果顯示在成活率方面，濃度因子影響顯著 ($p < 0.05$)，培植體因子影響極顯著 ($p < 0.01$)。隨著處理濃度增加，頂芽與節芽培植體成活率皆降低，頂芽成活率在 50–84%之間，節芽則在 20–72%之間，但濃度增至 2.5 mM 時，節芽生長已嚴重受抑制。比較兩種培植體對多倍體誘導之效果，頂芽產生多倍體的比率介於 49.1–88.9%之間，節芽則在 33.4–50%之間 (表 5)，但在相同濃度下，頂芽皆較節芽有較高之誘導率。

將頂芽培植體先於含有 BA 之增殖培養基中預處理 3 天後再施以秋水仙素處理；或於不含秋水仙素之液體培養基中培養 3 天後再施以秋水仙素處理及 BA 增殖培養基培養。兩種程序比較含有 BA 之增殖培養基施用在秋水仙素處理前或處理後，對多倍體誘導率的影響。結果顯示前者多倍體誘導比率為 65.9%；後者為 72.1%，但前者之嵌合體比例僅 6.4%，而後者達 22.9% (表 6)，嵌合體以 2x + 4x 或 4x + 8x 較多。

表 5. 比較頂芽及節芽培植體在不同秋水仙素濃度液體培養基中處理 3 天對台灣金線連多倍體誘導之影響

Table 5. Effect of colchicine concentration for 3-day exposure on polyploidy induction of *A. formosanus in vitro* shoot tip and nodal explants

Colchicine (μM)	Type of explant	No. of analyzed shoots	Polyploid (%)						
			2C	4C	6C	7C	8C	9C	Chimera
0.625	tip	195	22.6	58.0	1.0	0.0	7.2	0.0	11.3
	nodal	6	66.7	16.7	0.0	0.0	16.7	0.0	0.0
1.25	tip	54	13.5	68.5	0.0	0.0	20.4	0.0	3.7
	nodal	10	30.0	50.0	0.0	0.0	0.0	0.0	20.0
2.5	tip	65	35.4	29.2	1.5	1.5	15.4	1.5	15.4
	nodal	0	–[z]	–	–	–	–	–	–

[z] No expansion leaf was found on shoots for analysis.

表 6. 頂芽培植體在 2.5 mM 秋水仙素處理前或處理後於含有 BA 之培養基中培養對台灣金線連誘導多倍體之影響

Table 6. Effects of BA treatment before or after 2.5 mM colchicine culturing on polyploidy induction of *A. formosanus in vitro* shoot tip explants [z]

BA treatment [z]	No. of analyzed shoots	Polyploidy (%)				Chimera (%)		
		2C	4C	5C	8C	2C + 4C	4C + 8C	Other patten
Before colchicine exposure	47	27.7	34.0	0.0	31.9	4.3	2.1	0.0
After colchicine exposure	61	4.9	45.9	1.6	24.6	8.2	1.6	13.1

[z] Medium containing the half MS basal salts, 2 mg/L BA, 0.5 mg/L NAA and 3% sucrose.

討　　論

Chang (1999) 指出以台灣金線連培植體利用液體與固體交互培養方式可提升芽體增殖率；在台灣金線連根莖誘導多倍體的研究中亦採用此種微體增殖方式，根莖培植體於秋水仙素液體培養基中進行多倍體的誘導，再繼代於固體培養基中恢復生長，證實有良好之成效 (Hsia *et al.* 2009)。比較台灣金線連以微體繁殖之根莖或瓶苗莖節作為培植體之優缺點，顯示根莖因可處理之數量大 (由種子長出)，且具有較強之分生能力是其優點，但處理時必須配合適當的根齡，且高成活率導致後期篩選之工作量亦隨之增加 (Hsia *et al.* 2009)；對於優良品種而言，採取莖節作為培植體具有保存母株特性之優點，尤其利用莖節中之頂芽作為多倍體誘導之材料，其誘導效率高 (最高可達 161%)，篩選效率較高是其優點。

常用之抗微管藥劑包括有：秋水仙素、二硝基苯 (dinitroaniline) 類之歐拉靈、三福林；二氯基苯甲酸類之拿草特 (pronamide) 及含磷氨基化合物 (phosphoric amide) 之甲基胺草磷 (amiprophos-methyl) (Acquah 2007)。Hansen *et al.* (1998) 利用 0–300 μM 秋水仙素、拿草特、歐拉靈、三福林及甲基胺草磷處理甜菜胚珠，發現秋水仙素具最強毒性，歐拉靈和三福林其次。在本研究中不同抗微管藥劑採用之濃度 (25、100、400 μM) 主要係參考歐拉靈和三福林，較一般秋水仙素習用濃度偏低，但因處理時間長達 2 週，各藥劑仍顯現對芽體生長抑制

之現象，以每一藥劑濃度共處理 75 個莖節芽數來看，在秋水仙素 100 µM、400 µM 處理中，成活植株分別為 0 及 3 株；歐拉靈、三福林處理組的存活株數則在 11–47 株之間，3 種藥劑中以歐拉靈對芽體繁殖及生長的抑制作用最低，三福林其次，而以秋水仙素最強 (表 1)，與前述 Hansen *et al*. (1998) 報告之結果相類似。以抗微管藥劑對多倍體誘導的效率來看，400 µM 秋水仙素所獲得的 3 株植株皆為多倍體 (100%)；歐拉靈或三福林處理的多倍體誘導比率在 5.6–27.8%之間。

秋水仙素是多倍體誘導最常被使用之藥劑，使用濃度的高低與處理時間的長短皆能影響植株成活率及多倍體的誘導率。Chakraborti *et al*. (1998) 以桑椹離體培養之頂芽為材料，利用 0–5 mM 秋水仙素處理 24 小時，發現 5 mM 濃度導致高死亡率。在本研究中使用 6.25 mM 秋水仙素處理 3 天，同樣發現培植體生長受抑制，芽體於繼代後皆褐化死亡 (表 2)。比較 0.625–6.25 mM 濃度，顯示其中以 2.5 mM 對多倍體誘導比率最佳 (80%)。在處理時間方面，採用 2.5 mM 濃度分別處理 3、6 及 9 天處理，雖然結果以 6 天處理之多倍體誘導比率最高 (100%)，但處理 90 個芽數僅得 2 株成活植株；處理時間增至 9 天則無成活芽體，因此推斷使用 2.5 mM 濃度最佳之處理時間應低於 3 天。同樣採用 2.5 mM 並將處理時間縮短為 1–3 天的實驗中，節芽與頂芽兩種培植體中僅頂芽培植體能繼續生長，以 2 天處理之多倍體誘導比率 100%最高，但多倍體總株數則以 3 天處理組最高，因此推論以 2.5 mM 濃度處理，2–3 天為可接受之處理時間 (表 4)。

離體培養誘導多倍體大都採用分化能力較強的培植體，主要是希望培植體的細胞必須具有高度分裂及生長發育之特性；除此之外，亦可利用添加植物生長調節劑先活化生長靜止之體細胞，後續再以秋水仙素處理以提高多倍體植株形成率 (Adaniya & Shoda 1998)。在本研究中首先利用瓶苗莖節作為培植體 (未區分頂芽或節芽)，觀察到培植體存在有明顯的個別差異，此差異有可能來自培植體本身生理狀態之不同，以及不同組織生長能力之不同，因此進一步將莖節培植體區分為頂芽及其下一節段之節芽，比較其差異性。試驗結果顯示不同培植體對於成活率影響顯著 ($p < 0.01$)，其中頂芽較節芽對秋水仙素濃度的耐受性較高 (表 4)，多倍體誘導倍率亦較高 (表 5)，尤其頂芽若以 0.625 mM 低濃度秋水仙素處理，可以保持高成活率並具有增殖能力，雖然其多倍體誘導比率 66.2%低於 1.25 mM 組之 88.9% (表 5)，但因成活之總株數較多 (195 株)，其中 129 株皆為多倍體，誘導效率達 161.3% (129 株/80 個芽)；而提高濃度之 1.25 mM 組僅獲得 48 株多倍體，佔處理芽數之 60% (48 株/80 個芽)，顯示培植體、秋水仙素濃度及處理時間適當之配合，可提高多倍體誘導之效率。

嵌合體或多種倍體數同時存在於不同之細胞或發育時期在植物並不鮮見 (Lee *et al.* 2004)，在多倍體誘導過程中，由於細胞分裂的不同步，因此有嵌合體的產生。本研究中培植體於含有 BA 之增殖培養基中培養的時間，分別在秋水仙素處理之前或之後，兩種培養方式的培植體在含有 BA 的增殖培養基中皆共培養 4 天，結果顯示兩種程序在多倍體的誘導率上雖然差異不大 (65.9% vs. 72.1%)，但培植體於秋水仙素處理後若繼續培養於增殖培養基中，嵌合體出現比例為 23.0%，較先以增殖培養基預培養再施以秋水仙素組之嵌合體比例 6.4%明顯偏高 (表 6)。推論培植體先於增殖培養基中培養，有利於將不同生理狀態之細胞經由細胞分裂素 BA 的作用同質化；又或者培植體在秋水仙素處理後繼續培養於增殖培養基中培養，由於 BA 對細胞分裂促進的持續作用，因而導致嵌合體比例的增高，值得進一步研究。

綜合本研究之結果歸納如下，抗微管藥劑的種類及其濃度對金線連多倍體誘導效果各有不同，歐拉靈與三福林於較低濃度即可達到多倍體誘導之效果，且芽體有較高之成活率，但多倍體誘導比率與秋水仙素相較則偏低；使用秋水仙素需避免長時間處理 (超過 3 天) 對培植體所導致之毒害作用；選擇具有高生長分化力之培植體配合低濃度秋水仙素處理，雖然多倍體產生比率較高濃度秋水仙處理為低，但因芽體生長受到抑制較小，成活之植株數較多，在獲得多倍體總株數方面反而有利。建議採用頂芽為培植體並適當降低秋水仙素使用濃度 (0.625–1.25 mM)，可提高芽體成活率及增殖率，可獲得較多的多倍體植株。此外，在秋水仙素處理前培植體先以增殖培養基培養，並避免培植體於秋水仙素處理後持續培養於增殖培養基中，可減少嵌合體的出現。

誌　謝

本研究經費為農業生物技術國家型計畫所提供，計畫編號 96-2317-B-055-008 特此申謝。

引用文獻 (Literature cited)

Acquah, G. 2007. Principles of Plant Genetics and Breeding. Blackwell Pub. USA. 569 pp.

Adaniya, S. and M. Shoda. 1998. Variation in pollen fertility and germinability in ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 67: 872–874.

Adaniya, S. and M. Shirai. 2001. *In vitro* induction of tetraploid ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and its pollen fertility and germinability. Sci. Hort. 88: 277–287.

Chakraborti, S. P., K. Vijayan, B. N. Roy, and S. M. Qadri. 1998. *In vitro* induction of tetraploidy in mulberry (*Morus alba* L.). Plant Cell Rep. 17:799–803.

Chang N. W. 1999. Mass Propagation of *Anoectochilus formosanus* through Tissue Culture. Master thesis. Chung Hsing Univ. Taichung, Taiwan. 82 pp. (in Chinese with English abstract)

Gao, S. L., D. N. Zhu, Z. H. Cai, and D. R. Xu. 1997. Autotetraploid plants from colchicine-treated bud culture of *Salvia miltiorrhiza* Bge. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 47:73–77.

Hansen, A. L., A. Gertz1, M. Joersbo, and S. B. Andersen. 1998. Antimicrotubule herbicides for *in vitro* chromosome doubling in *Beta vulgaris* L. ovule culture. Euphytica 101:231–237.

Hsia, C. N., J. T. Huang, U. C. Chen, C. Y. Tsao, S. H. Liang, and H. S. Tsay. 2009. *In vitro* induction of polyploidy from rhizomes of *Anoectochilus formosanus*. J. Taiwan Agric. Res. 58:302–309. (in Chinese with English abstract)

Huang, J. T. 2007. Colchicine on Polyploidy Induction of *in vitro Anoectochilus formosanus* Hayata. Master thesis. Chung Hsing Univ. Taichung, Taiwan. 61 pp. (in Chinese with English abstract)

Kermani, M. J., V. Sarasau, A. V. Roberts, K. Yokoya, J. Wentworth, and V. K. Sieber. 2003. Oryzalin-induced chromosome doubling in *Rosa* and its effect on plant morphology and pollen viability. Theor. Appl. Genet. 107:1195–1200.

Lee, H. C., D. W. Chiou, W. H. Chen, A. H. Markhart, Y. H. Chen, and T. Y. Lin. 2004. Dynamics of cell growth and endoreduplication during orchid flower development. Plant Sci. 166:659–667.

Murashiage, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15:473–497.

Osborn, T. C., J. C. Pires1, J. A. Birchler, D. L. Auger, Z. J. Chen, Hyeon-Se Lee, L. Comai, A. Madlung, R.W. Doerge, V. Colot, and R. A. Martienssen. 2003. Understanding mechanisms of novel gene expression in polyploids. Trends Genet. 19:141– 147.

Poehlman, J. M. 1987. Breeding Field Crops. 3rd ed. Van Nostraud Reinhold. New York. 724 pp.

Shiau, Y. H., C. C. Chen, C. Y. Lu, and H. S. Tsay. 1995. Tissue culture of *Anoectochilus formosanus* Hayata I. Studies in the improvement of seed germination. J. Agric. Res. China 44:279–286.

In Vitro Induction of Polyploidy from Nodal Explants of *Anoectochilus formosanus* [1]

Chi-Ni Hsia[2,4], Jian-Tan Huang[3], Uei-Chern Chen[2], Chin-Yi Tsao[2],

Shu-Hui Liang[2], and Hsin-Sheng Tsay[4]

Abstract

Hsia, C. N., J. T. Huang, U. C. Chen, C. Y. Tsao, S. H. Liang, and H. S. Tsay. 2010. *In Vitro* induction of polyploidy from nodal explants of *Anoectochilus formosanus*. J. Taiwan Agric. Res. 59:165–176.

Anoectochilus formosanus is an important ethnic as well as a medicinal herb in Taiwan. Investigations of antimicrotubule chemicals, colchicine concentration, colchicine exposure time and colchicine combination with BA treatment on polyploidy induction using *in vitro A. formosanus* nodal explants were conducted in this study. Ploidy levels of shoots regenerated from antimicrotubule chemical treatments were analyzed using flow cytometry. Nodal segments were exposed to different concentration (25–400 μM) of colchicine, oryzalin and trifluralin in a liquid culture for two weeks, and the highest polyploidy rate was found at 400 μM colchicine with minimum survival. In order to find the optimum concentration for polyploidy induction, nodal explants were exposed to colchicine concentration range from 0.625 to 6.25 mM for three days. Polyploids were able to induce from all tested concentrations except of 6.25 mM which had severe toxicity on explants and the highest induction rate of 80% was found at 2.5 mM colchicine. Nodal explants were further exposed to 2.5 mM colchicine for 3–9 days, and minimum survival rates (< 30%) were found on prolonging exposure time longer than 3 days. Nodal explants were further defined into shoot tip and nodal segment as explants culturing at 2.5 mM colchicine for 1 to 3 days. No polyploidy was found from nodal segment regardless exposure times however a polyploidy induction rate up to 100% was obtained using shoot tip as explants for 2-day exposure. Extending colchicine concentration from 0.625 to 6.25 mM for 3-day exposure using both nodal segment and shoot tip as explants was conducted subsequently. Although the highest polyploidy induction rate 88.9% was found at 1.25 mM colchicine, the highest numbers of polyploids were obtained at lower concentration of 0.625 mM from shoot tip explants. BA treatment applied before or after colchicine exposure was compared using shoot tip explants. A chimera rate 23% observed from explants continuously exposed to BA-containing medium after the colchicine treatment, in contrast only

1. Contribution No. 2411 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: September 23, 2010.

2. Respectively, Associate Researcher, Assistant Researcher, Assistant Researcher, and Project Assistant, Biotechnology Division, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.

3. Graduate student, Department of Agronomy, Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.

4. Professor, Department of Biotechnology, Chaoyang University of Technology, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.

5. Corresponding author, e-mail: hsia@tari.gov.tw; Fax: (04)23302806.

6.4% chimera observed in explants which were exposed to BA-containing medium only before the colchicine treatment. The present study demonstrates that polyploidy can be induced from *in vitro* grown nodal segments successfully with different antimicrotubule chemicals. An efficient polyploidy induction method has been established culturing shoot tip in a liquid medium containing 0.625 concentrations of colchicine for 3-day exposure with polyploidy induction rate up to 161% (129 polyploids/80 shoot tip explant) in this study.

Key words: *Anoectochilus formosanus*, Micropropagation, Colchicine, Polyploidy, Flow cytometry.

行政院農業委員會農業試驗所 TAIWAN AGRICULTURAL RESEARCH INSTITUTE 1895

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 59(3):177–184 (2010)

黃條葉蚤 [*Phyllotreta striolata* (Fabricius)] (Coleoptera: Chrysomelidae) 之幼生期形態研究 [1]

李奇峰[1,2] 邱一中[2]

摘　　要

李奇峰、邱一中。2010。黃條葉蚤 [*Phyllotreta striolata* (Fabricius)] (Coleoptera: Chrysomelidae) 之幼生期形態研究。台灣農業研究 59:177–184。

黃條葉蚤是常見的十字花科蔬菜害蟲，其成蟲取食葉片，而幼蟲鑽入土中，取食植物的根；幼蟲胸部及腹部體表的瘤起位置及剌毛序列是很重要的診斷特徵，本文以親緣的觀念來命名各個瘤起，並以針筆描繪；同時並針對其他有骨化的部份，包括頭部、口器及腳的各部分剌毛的位置與數目做詳細的描述；另外，亦描述蛹的剌毛位置與數目，以做為診斷鑑定的重要依據。

關鍵詞：黃條葉蚤、金花蟲科、幼蟲、蛹、剌毛序列學。

前　　言

黃條葉蚤 [*Phyllotreata striolata* (Fabricius)] 分類地位隸屬於昆蟲綱 (Insecta)，鞘翅目 (Coleoptera)，金花蟲科 (Chrysomelidae)，螢金花蟲亞科 (Galerucinae)，葉蚤族 (Alticini)；分布於整個舊北區、中南半島及蘇門達臘，並入侵到南非及北美 (Warchalowski 2003)，為十字花科蔬菜重要害蟲。台灣有關本蟲之研究包括發生期及防治 (Lee 1952; Tao & Lee 1981)、飼養方法、生活習性及寄主調查 (Chen *et al*. 1990)、生活史與其對植物誘導反應 (Lin 2006)、對芥子油與圓筒型黏膠式誘蟲器之誘引性 (Hung & Hwang 2000) 及趨光性 (Yang *et al*. 2003)；有關幼生期外部形態研究，只有 Chen *et al*. (1990) 做簡短的描述。本文針對幼蟲及蛹的外部形態作有系統的描述，並將所有的形態特徵以針筆描繪。

由於金花蟲幼蟲體表柔軟，體表骨化的瘤起 (tubercles) 的位置與數目，及瘤起上剌毛 (setae) 的數目是重要的分類特徵，從二十世紀早期學者就知道其重要性 (Sanderson 1902)；幼蟲體表瘤起的命名學便從 Sanderson (1902) 開始發展，Böving (1929) 及 Paterson (1931) 提出不同的命名方法，但皆無法廣泛應用；直至 Kimoto (1962) 發展出一套全新的命名系統，以親緣關係的概念來思考，較為實用，目前描述幼蟲的報告皆遵循他的方法 (如 Baselga 2010)；本研究亦以此方法來描述黃條葉蚤幼生期。

---

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2412 號。接受日期：99 年 10 月 4 日。
2. 本所應用動物組聘用副研究員及聘用助理研究員。台灣　台中縣　霧峰鄉。
3. 通訊作者，電子郵件：chifeng@tari.gov.tw；傳真機：(04)23317600。

由於農業害蟲是以成蟲為主要的鑑定依據，一旦採集到幼生期標本，往往令非學分類學者束手無策，本研究提供了金花蟲幼生期形態研究的前導作用，希望能激勵相關研究的進行。

材料與方法

幼蟲體表瘤起的命名學

金花蟲幼蟲體壁可分成五個區域：背面區 (Drosal part)、背側區 (Dorso-lateral part)、前側區 (Epipleural part)、側面區 (Pleural part) 及腹面區 (Sternal part)；而位於在這些區域的瘤起則命名為背面瘤 (D: Dorsal tubercle)、背側瘤 (DL: Dorso-lateral tubercle)、前側瘤 (EP: Epipleural tubercle)、側面瘤 (P: Pleural tubercle) 及腹面瘤 (S: Sternal tubercle)；而不同種類會有許多變化，細述如下：

背面區：在這個區域，有時瘤起會分成前面及後面的瘤起各 1 個，分別命名為背前瘤 (Da: Dorso-anterior tubercle) 以及背後瘤 (Dp: Dorso-posterior tubercle)，而這個亞科的種類腹部在這兩個瘤起之間還有 1 個瘤起，Takizawa (1972) 將其命名為背中瘤 (Dm: Dorso-medial tubercle)。

背側區：在這個區域，有時瘤起會分成前面及後面的瘤起各 1 個，分別命名為背側前瘤 (DLa) 及背側後瘤 (DLp)；有時還會分成內側 (interior) 及外側 (exterior) 的瘤起各 1 個，分別命名為背側內瘤 (DLi) 及背側外瘤 (DLe)。

前側區：在前胸及腹部這個區域總是 1 個瘤，命名為前側瘤 (EP)；然而在中胸及後胸則分成前面及後面的瘤起各 1 個，分別命名為前側前瘤 (EPa) 及前側後瘤 (EPp)。

側面區：在這個區域總是只有 1 個瘤起，命名為側面瘤 (P)。

腹面瘤：在這個區域典型上有兩個瘤起，分別命名為主腹面瘤 (ES: Eusternal tubercle) 及小腹面瘤 (SS: Sternellar tubercle)。

幼生期材料

成蟲採自農業試驗所，飼養方式依照 Chen *et al*. (1990)，所收集到的終齡幼蟲及蛹泡入 75%酒精保存；一些微小的構造的描繪，如頭部的刺毛序列，則先以尖鑷子解剖與身體分離，泡入滾燙的 10% KOH 溶液，之後轉移至載有甘油的玻片來觀察描繪。

形態特徵檢查及描繪

使用 Leica M165 型解剖光學顯微鏡及 Nikon ECLIPSE 50i 型穿透式光學顯微鏡並載裝繪圖管來描繪形態特徵。

結 果

終齡幼蟲

一般描述：體長 3.0–41.0 mm。體型毛蟲狀 (eruciform)，體表隆起；體色乳白，瘤起微弱骨化，淡黃色 (圖 1)。

頭部 (圖 2)：下口式 (hypognathous)，強烈骨化；額臂 (fa: frontal arms) 清楚可見，V 字型；內隆線 (ec: endocarina) 出現，延伸至頭盾 (cl: clypeus)；頭頂 (vertex) 具 5 根刺毛 (v1–v5)；額頭 (frons) 具 4 根刺毛 (f1–f4)；側面 (lateral part) 具 5 根刺毛 (l1–l5)。觸角 (ant: antenna) 非常短且微弱骨化 (圖 4)，共 3 節，第一節強烈橫向，第二節相對較窄且短，表面具一些膜質的感覺器 (membranous sensillum) 及微小刺毛，末節呈圓錐形；單眼 (stemmata) 退化消失；頭盾 (cl: clypeus) 具 3 對刺毛。

口器：上唇 (labrum) (圖 5) 具 2 對刺毛，端緣腹面具成列粗短刺毛及 2 對長刺毛；大顎 (mandibles) (圖 6) 對稱，具 4 端齒，基部背面內外側各具 1 根刺毛；小顎 (maxillae) (圖 3)：蝶絞節 (st: stripes) 狹長形，近基部外側具 3 根長刺毛，近小顎鬚 (mp: maxillary palp) 基部具 2 根短刺毛；外葉 (ga: galea) 具許多微小刺毛，內側具成列的粗短刺毛；小顎鬚 3 節，第

一節最寬，具 2 根刺毛，第二節明顯較第一節窄，內側具 1 根刺毛，最末節圓錐形，內側具 1 根刺毛；下唇 (圖 3)：下唇後基節 (pom: postmentum) 膜質，中間具 3 對刺毛，其中後面 2 對遠較前面 1 對為長；下唇前基節 (prm: prementum) 具 1 對短刺毛及 4 對微細刺毛；下唇鬚 (lp: labial palp) 2 節，第一節短而寬，第二節圓錐形。

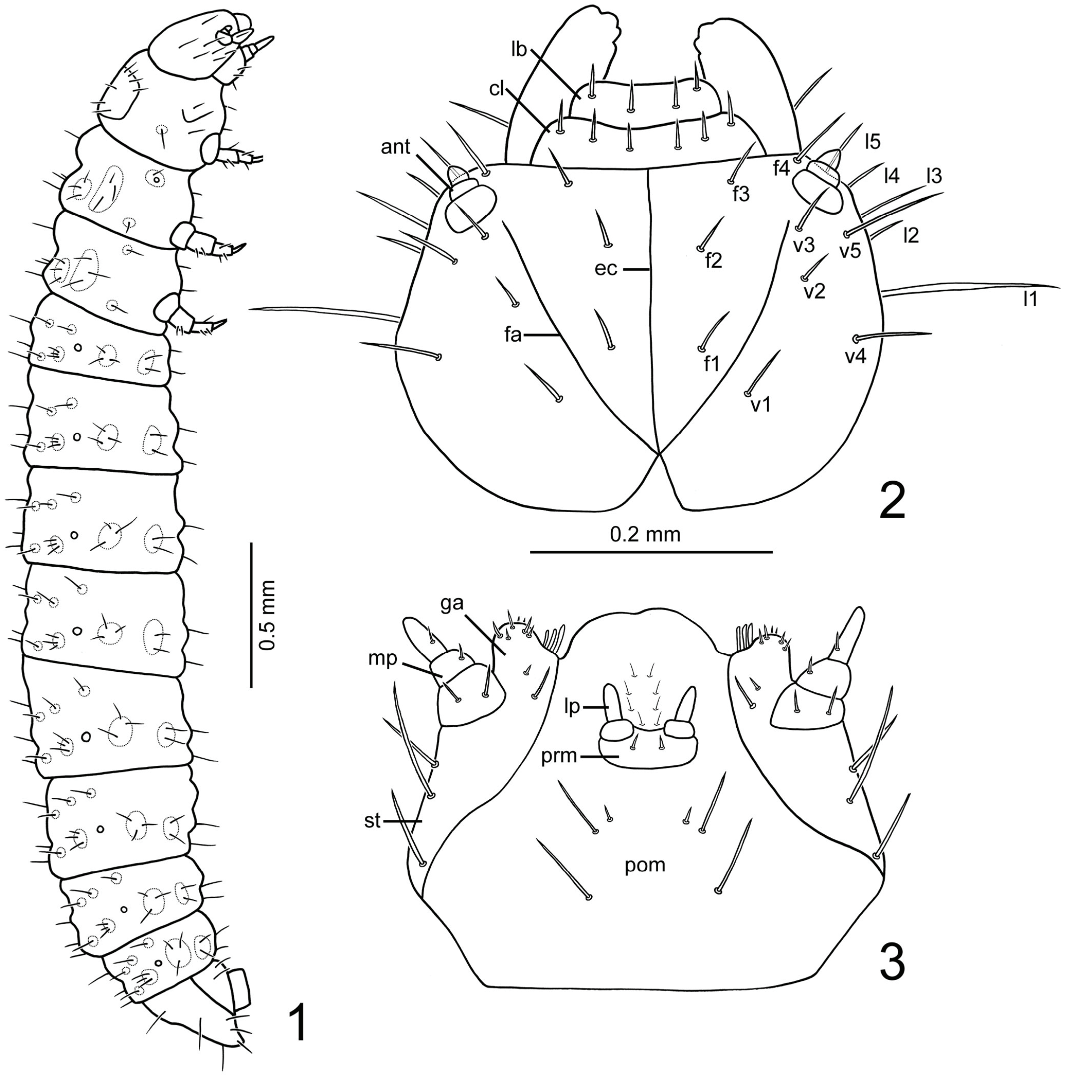


圖 1–3. 黃條葉蚤之終齡幼蟲。**1.** 側面圖；**2.** 頭部，背面圖；**3.** 小顎及下唇。

Fig. 1–3. Mature larva of *Phyllotreta striolata*. **1.** lateral view; **2.** head, dorsal view (ant, antenna; cl, clypeus; ec, endocarina; fa, frontal arms; lb, labrum); **3.** maxilla & labium (ga, galea; lp, labial palp; mp, maxillary palp; prm, prementum; pom, postmentum; st, stripes).

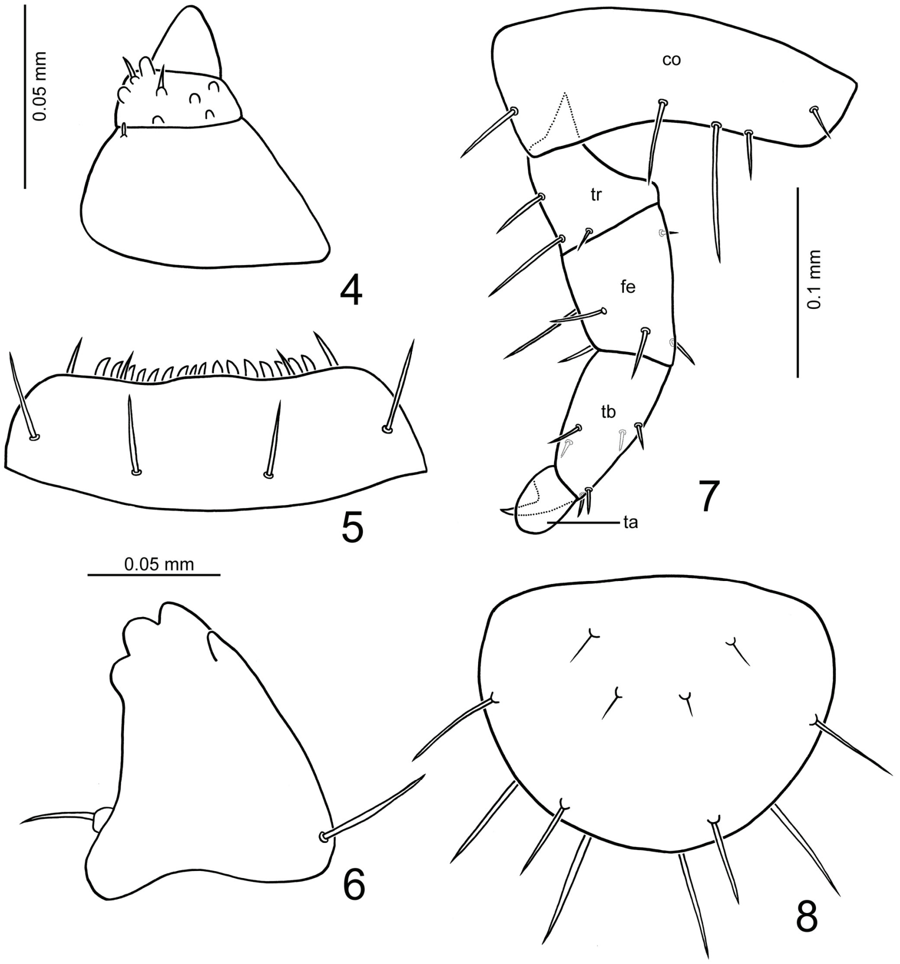


圖 4–8. 黃條葉蚤之終齡幼蟲。**4.** 觸角；**5.** 上唇；**6.** 大顎；**7.** 腳；**8.** 臀板；同比例尺：圖 5 & 6；7 & 8。

Fig. 4–8. Mature larva of *Phyllotreta striolata*. **4.** antenna; **5.** labrum; **6.** mandible; **7.** leg (co, coxa; fe, femur; ta, tarsungulus; tb, tibia; tr, trochanter); **8.** pygidium; same cale: fig. 5 & 6; 7 & 8.

胸部 (圖 9)：前胸 (Pr: Prothorax) 的背面瘤 (D) 與背側瘤 (DL) 癒合，形成一個較大的瘤起 (D-DL)，表面具 11 根刺毛：前緣 5 根，後緣 4 根，中間 2 根；前側瘤 (EP) 具 1 根刺毛；側面瘤 (P) 具 1 根刺毛；主腹面瘤 (ES) 及小腹面瘤 (SS) 各具 1 根刺毛。中胸 (Ms: Mesothorax) 與後胸 (Mt: Metathorax) 背面瘤分成前面及後面各 1 個：背前瘤 (Da) 具 1 根刺毛，背後瘤 (Dp) 具 2 根刺毛，其中 1 根明顯較長；背側瘤分成內側及外側各 1 個：背側內瘤 (DLi) 及背側外瘤 (DLe) 各具 3 根刺毛；前側瘤分成前面及後面各 1 個：前側前瘤 (EPa) 及前側後瘤 (EPp) 各具 1 根刺毛；側面瘤 (P) 具 1 根刺毛；主腹面瘤 (ES) 及小腹面瘤 (SS) 各具 1 根刺毛；氣孔 (sp: spiracle) 只出現在中胸 (圖 1)。

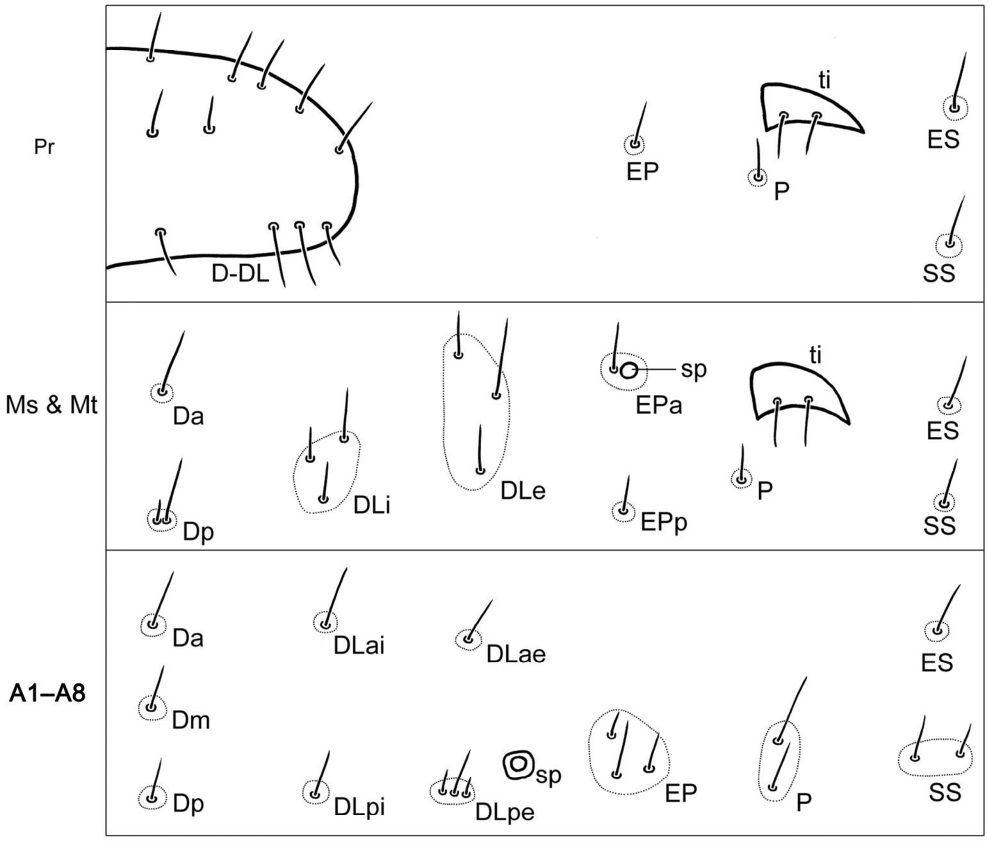


圖 9. 黃條葉蚤終齡幼蟲體壁瘤起的位置及刺毛序列。

Fig. 9. Mature larva of *Phyllotreta striolata*: location of tubercles and body chaetotaxy (Pr, prothorax; Ms, mesothorax; Mt, metathorax; A1–A8, abdominal segments 1–8).

腳 (圖 7)：所有的腳大小相似，基轉節 (ti: trochantin) 位於側面瘤 (P) 之前，具 2 根微小刺毛 (圖 9)；基節 (co: coxa) 橫向 (圖 7)，前側具 5 根長刺毛；轉節 (tr: trochanter) 外側具 3 根刺毛，其中 1 根非常細長；腿節 (Fe: femur) 外側具 2 根刺毛，中間具 2 根刺毛，內側具 2 根短刺毛；脛節 (tb: tibia) 前後側具 3 對刺毛，其中 1 對近外緣，其他 2 對位於內緣；跗爪 (ta: tarsungulus) 無具刺毛。

腹部：第一節至第八節 (圖 9) 的背面瘤分成前、中、後各一個：背前瘤 (Da)、背中瘤 (Dm) 及背後瘤 (Dp) 各具 1 根刺毛：背側瘤分成前後側及內外側共 4 個瘤起，其中背側前內瘤 (DLai)、背側前外瘤 (DLae) 及背側後內瘤 (DLpi) 各具 1 根刺毛，而背側後外瘤 (DLpe) 具 3 根刺毛；前側瘤 (EP) 具 3 根刺毛；側面瘤 (P) 具 2 根刺毛；主腹面瘤 (ES) 具 1 根刺毛，而小腹面瘤 (SS) 具 2 根刺毛；氣孔 (sp: spiracle) 位於側面中央 (圖 1)。臀版 (pygidium) (圖 8) 半圓形，沿著外緣具 4 對長刺毛，中間具 2 對短刺毛。

蛹

一般描述：體長 2.3–2.8 mm。裸蛹，體色乳白。胸部及腹部的腹面光滑無具刺毛。

頭部 (圖 11)：具 3 對刺毛，其中一對位於複眼上方，另 1 對在複眼之間，最後一對在觸角之間；頭盾具 1 對微細刺毛。

胸部 (圖 10)：前胸背板具 6 對刺毛，其中 4 對位於外緣，其他 2 對位於中間；中胸及後胸背板各具 2 對刺毛。

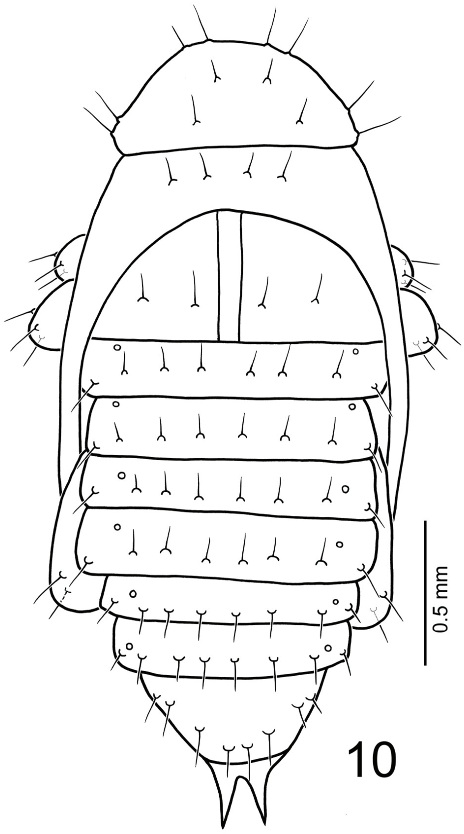
腳 (圖 10)：前腳及中腳腿節的亞基部具 3 根刺毛，而後腳只具 2 根刺毛。

腹部：第一節至第六節具 4 對刺毛，最外面 1 對位於後側角；第七節具 4 對刺毛，沿著外緣；腹末具尾突 (urogomphi)。

標本檢查：台灣，台中縣霧峰鄉，農業試驗所，11/02/2009，14 隻終齡幼蟲及 16 個蛹。

討　　論

黃條葉蚤的幼蟲為棲土性，取食寄主植物的根；幼蟲體表瘤起極度退化，只在刺毛的基部具微弱硬化的骨片，若以拍攝照片來顯示形態特徵，如瘤起大小及位置，及瘤起上刺毛的位置及數目，是極度困難的；唯有以針筆來描繪，才能適切地顯示其特徵。



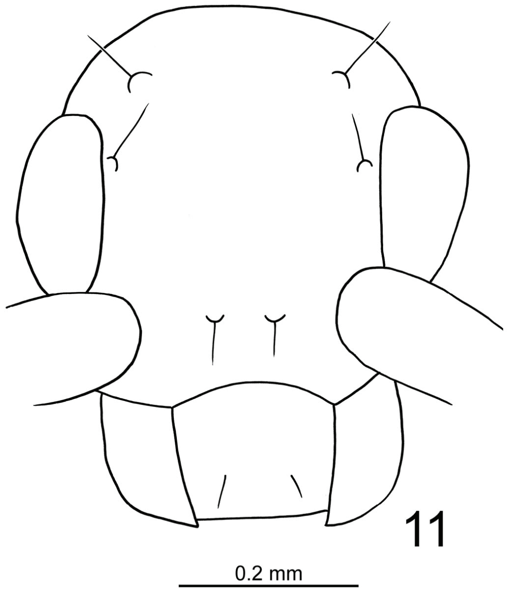


圖 10–11. 黃條葉蚤蛹之刺毛序列。**10.** 背面圖；**11.** 頭部。

Fig. 10–11. Pupa of *Phyllotreta striolata*: body chaetotaxy.　**10.** dorsal view; **11.** head.

相對於成蟲的分類研究，金花蟲幼蟲的形態研究似乎是乏人問津，舉例來說，以研究較為透徹的西舊北區 (West Palaearctic region) 來說，已知的共 1750 種中只有 382 種有幼蟲被描述 (Steinhausen 1996)，佔已知種的 22%。台灣種類超過六百種 (Kimoto & Takizawa 1997)，只有 7 種被正式描述 (Takizawa 1976a, 1976b, 1976c, 1977, 1978)，顯見此方面的研究極待努力。

誌　謝

本研究承本組同仁邱研華及陳虹伊小姐協助黃條葉蚤的飼養及寄主植物的栽培等試驗工作，李啟陽助理研究員及台大楊恩誠副教授幫忙收集珍貴的文獻，在此一併致謝。

引用文獻 (Literature cited)

Baselga, A. 2010. The mature larva of *Gonioctena variabilis* Olivier, 1790 (Coleoptera, Chrysomelidae, Chrysomelinae) and key to the larvae of the subgenus *Spartoxena*. ZooKeys 33:19–27.

Böving, A. G. 1929. Beetle larvae of the subfamily Galerucinae. Proc. Nat. Mus. U.S. 75:1–43.

Chen, C. C., W. H. Ko, and C. L. Lee. 1990. Studies on the ecology and control of *Phyllotreta striolata* (Fab.) (I) Morphology, rearing method, behaviors and host plants. Res. Bull. Taichung Dist. Agric. Impr. Stat. 27:37–48. (in Chinese with English abstract)

Hung, C. C. and J. S. Hwang. 2000. Influence of cylinder-type sticky traps baited with different mustard oil lures on *Phyllotreta striolata* (Coleoptera: Chrysomelidae). Chinese J. Entomol. 20:201–214. (in Chinese with English abstract)

Kimoto, S. 1962. A phylogenetic consideration of Chrysomelinae based on immature stages of Japanese species (Coleoptera). J. Fac. Agric. Kyushu Univ. 12:67–88.

Kimoto, S. and H. Takizawa. 1997. Leaf Beetles (Chrysomelidae) of Taiwan. Tokai Univ. Press. Tokyo. 581 pp.

Lee, H. S. 1952. The occurrence of Turnip flea beetle and its control experiment. J. Taiwan Agric. Res. 4: 30–35. (in Chinese with English abstract)

Lin, S. M. 2006. Life History of *Phyllotreta striolata* (Fabricius) and Its Induced Plant Responses. Master Thesis. Graduate Institute of Entomology, National Chung Hsing Univ., Taichung. 43 pp.

Paterson, N. F. 1931. The bionomics and morphology of certain Chrysomelidae. Proc. Zool. Soc. London 1931:879–949.

Sanderson, E. D. 1902. Notes upon the structures and classification of Chrysomelid larvae. Proc. Entomol. Soc. Wash. 5:21–31.

Steinhausen, W. R. 1996. Status of West Palaearctic leaf beetle larvae research. p.65–91. *in*: Chrysomelidae Biology. Vol. 3: General Studies. (Jolivet, P. H. A. and M. L. Cox, eds.) SPB Academic Pub. Amsterdam, the Nethelands. 365 pp.

Takizawa, H. 1972. Descriptions of larvae of glanduliferous group of Galerucinae in Japan with notes on subdivisions of the subfamily. Ins. Mat. Suppl. 10: 1–14.

Takizawa, H. 1976a. Larva of *Phratora similis* (Chûjô) from Taiwan (Coleoptera: Chrysomelidae). Akitu 5:1–6.

Takizawa, H. 1976b. Larva of *Apterogaleruca hirtihumeralis* Chûjô, 1962 (Coleoptera: Chrysomelidae). Akitu 6:1–4.

Takizawa, H. 1976c. Larva of *Linaeidea formosana* (Bates) from Taiwan. Akitu 8:1–6.

Takizawa, H. 1977. Larva of *Agrosteomela indica* (Hope) from Taiwan. Akitu 10:1–4.

Takizawa, H. 1978. Notes Taiwanese chrysomelid larva V. Entomol. Rev. Jpn. 31:75–84.

Tao, C. C. and H. S. Lee. 1981. Population fluctuation of cruciferous insect pests and their control in Taiwan. p.16–31. *in* the Proceeding of Symposium on the Production and Insect Control of Cruciferous Vegetables in Taiwan. Taiwan Prot. Center. Taichung. (in Chinese with English abstract)

Warcholawski, A. 2003. Chrysomelidae: The Leaf-Beetles of Europe and the Mediterranean Area. Natura optima dux Foundation. Warszawa, Poland. 600 pp.

Yang, E. C., D. W. Lee, and W. Y. Wu. 2003. Action spectra of phototactic responses of the flea beetle, *Phyllotreta striolata*. Physiol. Entomol. 28:362–367.

Immature Stages of *Phyllotreta striolata* (Fabricius) (Coleoptera: Chrysomelidae)[1]

Chi-Feng Lee[2,3] and Yi-Chung Chiu[2]

Abstract

Lee, C. F. and Y. C. Chiu. Immature stages of *Phyllotreta striolata* (Fabricius) (Coleoptera: Chrysomelidae). J. Taiwan Agric. Res. 59:177–184.

Phyllotreata striolata (Fabricius) is a major pest on the cruciferous vegetables. Adults feed on leaves of the host plant while larvae crawl into the soil and feed on roots. Location of tubercles and body chaetotaxy on larvae are significant to diagnosis. They are described based on the phylogenetic consideration and illustrated with line drawings. Pupa and setae on head, mouthparts, and leg of larvae are also illustrated and described for identification.

Key words: *Phyllotreata striolata*, Chrysomelidae, Larva, Pupa, Chaetotaxy.

---

1. Contribution No. 2412 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: October 4, 2010.
2. Associate Entomologist and Assistant Entomologist, Applied Zoology Division, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Corresponding author, e-mail: chifeng@tari.gov.tw; Fax: (04)23317600.

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 59(3):185–196 (2010)

龍眼種原遺傳多樣性之 ISSR 標誌研究 [1]

蔣功國[2] 溫英杰[2,3] 李維育[2] 張靜誼[2]

摘 要

蔣功國、溫英杰、李維育、張靜誼。2010。龍眼種原遺傳多樣性之 ISSR 標誌研究。台灣農業研究 59:185–196。

為做好龍眼種原之利用，以簡單重複序列間區分子標誌技術 (ISSR)，對農業試驗所歷年來收集之 24 份龍眼種原進行遺傳相似度分析。從 134 條 ISSR 引子中篩選出 15 條引子，其產生之增幅條帶具多型性且再現性良好。利用這 15 條引子共擴增 149 條條帶，其中 137 條為多型性條帶 (92.5%)；本研究並發現其中 5 條屬於特徵性條帶，可用於品種鑑定之參考標記。群集分析結果顯示，24 個龍眼品種可分為二個主群與粉殼及青殼二個單群，二個主群又可進一步細分為七個亞群。在所分析的 24 個龍眼品種中，遺傳相似度係數介於 0.54–0.91 之間，紅殼硬枝品種和紅殼品種的遺傳相似度係數為 0.91，表示其親緣關係最近；青殼與其他龍眼品種之遺傳相似度係數為 0.54，親緣關係最遠。對照的荔枝品種與其他龍眼品種之遺傳相似度則為 0.44。

關鍵詞：龍眼、遺傳多樣性、簡單重複序列間區分子標誌技術。

前 言

龍眼 (*Dimocarpus longan* Lour.) 原產中國大陸，不僅為中國南方亞熱帶特產果樹，越南、泰國也有廣泛的栽培 (Huang *et al*. 2005)。龍眼對土壤適應性強，紅土丘陵等貧瘠土地也可生長，栽培管理容易而且樹命長，在台灣受到大家的喜愛，屋前屋後總會種上幾株龍眼，既可遮陰乘涼，又可採收果實食用，因此台灣鄉間百年以上的龍眼樹並不少見。龍眼為台灣夏季重要果樹，果實營養價值高，除鮮食外，亦可乾燥做成龍眼乾，是民間常用的滋補品。根據農業統計年報顯示，2008 年台灣龍眼栽培面積 11,704 ha，產量 101,909 t，台中縣、台南縣和高雄縣是主要產地 (Council of Agriculture 2008)。

簡單重複序列間區分子標誌技術 (inter-simple sequence repeat, ISSR) 是由 Zietkiewicz *et al*. (1994) 所提出的一種在聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 中直接使用微衛星序列，進行 DNA 擴增的分子標誌技術，它有實驗操作簡單、快速、效率高的特性，不需預先知道研究對象的基因序列，就能擁有高度的穩定性及再現

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2413 號。接受日期：99 年 10 月 7 日。
2. 本所作物種原組技術員、研究員兼組長、技術員、研究助理。台灣 台中縣 霧峰鄉。
3. 通訊作者，電子郵件：icwen@tari.gov.tw；傳真：(04)23390791。

性的增幅條帶，是一種結合逢機增殖多型性 DNA (random amplified polymorphic DNA, RAPD) 及簡單重複序列 (simple sequence repeat, SSR) 優點的分子標誌技術。ISSR 可以對整個基因組 DNA 進行多型性分析，用以建立特定基因標誌，或提供種和品種的演化關係、分類及鑑定依據等。利用一系列的引子進行 PCR 反應，能獲得不同長度的 DNA 片段，根據電泳所顯示條帶的差異，可以計算品種間遺傳距離或相似性係數，建立譜系關係樹狀圖，用來鑑別它們的差異程度及親緣關係。

利用基因組 DNA 做分子標記，由於不同的分子標記可以在不同的類群中產生獨特的帶型或者得到種或種以上分類特異性的條帶，沒有傳統分類法易受環境及季節影響的缺點，因此 DNA 分子標記用於種級分類的研究越來越多。如今 ISSR 分子標誌技術已是最常被用來研究果樹親緣關係的方法之一，國內、外學者利用 ISSR 技術已發表的研究報告有山楂 (Dai *et al*. 2007)、木瓜 (Carrasco *et al*. 2009)、李 (Wang *et al*. 2008)、西瓜 (Yang *et al*. 2009)、芒果 (Wang *et al*. 2007; Yu & Ai 2007)、咖啡 (Masumbuko & Bryngelsson 2006; Aga *et al*. 2005)、枇杷 (Fu *et al*. 2009)、柑橘 (Fang & Roose 1997)、草莓 (Arnau *et al*. 2002)、梨 (Monte-Corvo *et al*. 2001)、無花果 (Ikegami *et al*. 2009; Amel *et al*. 2004, 2005)、菠蘿蜜 (Ye *et al*. 2009)、椰子 (Pan *et al*. 2010)、楊梅 (Pan *et al*. 2008)、葡萄 (Wu *et al*. 2006) 及蘋果 (Guo *et al*. 2010) 等，此說明 ISSR 技術已在許多果樹品種的親緣鑑定上得到廣泛的應用。本試驗採集不同地區龍眼品種 24 份，荔枝 1 份 (對照) 利用 ISSR 分子標誌技術分析種原來源與其親緣關係，並尋找可作為品種標誌之特殊 DNA 譜帶。

材料與方法

植物材料

試驗所用材料為 24 份龍眼 (*Dimocarpus longan* Lour.) 及 1 份荔枝 (*Litchi chinensis* Sonn.)，採自農業試驗所及嘉義分所種原保存園，樹齡為 10–15 年生之嫁接苗，其名稱、來源、成熟期及果重詳如表 1。

DNA 抽取方法

從不同植株採取新鮮的嫩葉 0.1–0.2 g，利用液態氮脫水乾燥，再研磨成粉末。加入 600 μL 之 65℃ DNA 萃取緩衝液 (100 mM Tris-HCl, pH 8.0; 20 mM EDTA; 1.4 M NaCl; 2% (w/v) CTAB; 1% (v/v) PEG 6000; 0.5% (v/v) 2-Mercaptoethanol)，輕輕混勻後，置於 65℃水浴鍋中 30 分鐘，取出靜置至室溫。加入 600 μL 氯仿/異戊醇 (chloroform-isoamyl alcohol 24 : 1, v/v) 溶液混勻，以離心機 (Heraeus biofuge fresco, Kendro Laboratory Products, Inc.) 4℃ 12,000 rpm 離心 10 分鐘。取上層液至新的微量離心管中，加入 400 μL 的異丙醇 (isopropanol) 混勻，於室溫下靜置 10 分鐘，再以 4℃ 12,000 rmp 離心 20 分鐘。去上清液，加入 1 mL 的洗滌緩衝液 [76% (v/v) ethanol; 10 mM ammonium acetate] 清洗沈澱物，以 4℃ 12,000 rpm 離心 10 分鐘。去上清液，沈澱物以真空乾燥之。沈澱物溶於 200 μL TE 緩衝液 (10 mM Tris-HCl, pH 7.4; 1 mM EDTA) 中，加入 RNaseA，於 37℃下反應 1 小時。將 DNA 稀釋 100 倍，利用光電比色計 (SmartSpec 3000, Bio-Rad Laboratories, Inc.) 測定 OD_{260} 及 OD_{280} 的吸光值，計算 DNA 的濃度，稀釋成 5 ng/μL 存於-20℃冰箱中備用，DNA 原液儲存於-80℃冰箱中。

ISSR 分子標誌分析

ISSR 分析所用之引子為 UBC SSR Primer Oligonucleotide Set 100/9 (John Hobbs, NAPs Unit, University of British Columbia, Vanconver,

Canada) 共 100 個及 34 個較長序列引子，其編號及序列詳見表 2。PCR 反應則以 30 ng 的 genomic DNA 當模板，在總體積 25 μL 反應溶液中進行聚合酶連鎖反應。其溶液中另含有 5× PCR buffer, 2 mM $MgCl_2$, 2 mM dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)；2.5 μM 引子及 0.5 unit Taq DNA polymerase (Promega)，置入 DNA 熱循環儀 (XP cycler, Biomer technology Co. Ltd.) 中。反應溫度先以 94℃ 5 分鐘，再以 94℃ 1 分鐘，55℃ 1 分鐘 30 秒，72℃ 2 分鐘，進行 42 個循環，最後以 72℃ 5 分鐘結尾，反應完成時自動保存於 4℃恆溫槽中。

取 12 μL 經聚合酶連鎖反應增殖的 DNA 溶液，加入 1 μL 稀釋 6 倍之電泳指示液

表 1. 試驗所用材料品種名稱、來源、成熟期及果重

Table 1. The name, origin, ripening season and fruit weight of 24 longan and 1 litchi cultivars used in the assay

No.	Cultivar name	Scientific name	Original country	Ripening season	Fruit wight (g)
1	Bai Dum	*Dimocarpus longan* Lour.	Thailand	mid-July	10.5
2	Bai Kew	*D. longan* Lour.	Thailand	early-Sep.	12.8
3	Carambo	*D. longan* Lour.	Hawaii	mid-Aug.	9.5
4	Jhuang Yuan Hong	*Litchi chinensis* Sonn.	China	early-June	22.2
5	Ponyai	*D. longan* Lour.	Florida	mid-July	11.0
6	Ta U Yun	*D. longan* Lour.	China	mid-July	12.3
7	Sak IP	*D. longan* Lour.	Hawaii	mid-July	9.5
8	E Wai	*D. longan* Lour.	Thailand	mid-Aug.	8.0
9	Siao He	*D. longan* Lour.	Taiwan	late-Sep.	14.2
10	Shih Yue Siao He	*D. longan* Lour.	Taiwan	early-Oct.	11.5
11	Fen Ke	*D. longan* Lour.	Taiwan	mid-Aug.	11.8
12	Da Fen Ke (I)	*D. longan* Lour.	Taiwan	mid-Aug.	14.0
13	Da Fen Ke (II)	*D. longan* Lour.	Taiwan	mid-Aug.	13.7
14	Shao An Liao	*D. longan* Lour.	Taiwan	early-Aug.	8.1
15	Dong Shan Fong Li Wei	*D. longan* Lour.	Taiwan	early-Aug.	9.3
16	Fu Yan	*D. longan* Lour.	Taiwan	early-Aug.	9.6
17	Di Tian	*D. longan* Lour.	Taiwan	early-Aug.	9.5
18	Hong Ke Ruan Jhih	*D. longan* Lour.	Taiwan	early-Aug.	10.8
19	Hong Ke Ying Jhih	*D. longan* Lour.	Taiwan	early-Aug.	11.0
20	Hong Ke	*D. longan* Lour.	Taiwan	early-Aug.	11.2
21	Yang Tao Ye	*D. longan* Lour.	Taiwan	early-Aug.	11.3
22	Si Gong Mao	*D. longan* Lour.	Taiwan	mid-Aug.	12.1
23	Ching Ke	*D. longan* Lour.	Taiwan	mid-Aug.	12.2
24	Yin Jiao	*D. longan* Lour.	China	–	–
25	Kahala	*D. longan* Lour.	Hawaii	early-Aug.	11.6

農業委員會農業試驗所 1895 TAIWAN AGRICULTURAL RESEARCH INSTITUTE

表 **2.** 試驗所用之 ISSR 引子

Table 2. Sequences of ISSR primers used in this study

Primer code	Primer sequence 5'→3'	Primer code	Primer sequence 5'→3'
L1	$(AG)_8GT$	L18	$CATC(ATC)_9$
L2	$GSG(GT)_6$	L19	$CATC(TTG)_9$
L3	$CCA(GTG)_4$	L20	$GAT(CTT)_9CT$
L4	$DBD(CA)_6$	L21	$GATC(GAGG)_7$
L5	$(CA)_9A$	L22	$GATC(GTAG)_7$
L6	$(CA)_9C$	L23	$GATC(AGTG)_7$
L7	$(CA)_9T$	L24	$GATC(TTCG)_7$
L8	$(GA)_9A$	L25	$GATC(TCTG)_7$
L9	$(GA)_9C$	L26	$GATC(GACA)_7$
L10	$(GA)_9T$	L27	$GATC(GATC)_7$
L11	$CCGGATCC(GA)_9$	L28	$GATC(TTAG)_8$
L12	$CCGGATCC(CT)_9$	L29	$GATC(TATC)_7$
L13	$CCGGATCC(GT)_9$	L30	$GATC(TATG)_8$
L14	$CCGGATCC(CA)_9$	L31	$GATC(GATA)_7$
L15	$CATC(CGG)_9$	L32	$GA(TCTAG)_6$
L16	$CATC(TGG)_9$	L33	$GAT(CTATG)_6$
L17	$CATC(GAG)_9$	L34	$CAT(CTTTT)_6C$

(loading dye, 30% Glycerol; 0.025% Bromophenol blue)，以 1.5%瓊脂膠體 (Agarose, Boehringer Mannheim GmbH Germany) 進行電泳，時間約 30 分鐘。結束後以 0.5 mg/mL 溴化乙錠 (ethidium bromide) 染色 2 分鐘，於 UV 燈下觀察膠體 DNA 多型性片段，照相及貯存影像於柯達影像分析系統 (Kodak digital science ID image analysis, Eastman Kodak Co.)，進行資料比對分析。

遺傳相似性分析

依 Jaccard (1901) 所提之相似度計算公式計算各族群間的相似度，其公式如下：Nab/(Na + Nb − Nab)，其中 Na 是樣本 a 的條帶數，Nb 是樣本 b 的條帶數，Nab 是樣本 a 和 b 共有的條帶數。依此法將所有樣本間兩兩的相似度計算出。並利用 NT-SYS (Exeter Software Co.) 軟體所提供的未加權平均法 (unweighted pair group method with arithmetic mean, UPGMA)，來計算其放大 DNA 片段相似性及建立其親緣關係樹狀圖。

結　果

ISSR 分子標誌分析

以 100 條加拿大哥倫比亞大學所研發之 ISSR 引子，針對本實驗之試驗材料進行篩選，得到 3 條引子 (UBC 809, 881, 890) 對試驗材料之 DNA 可呈現多型性且再現性良好。參考他人研究所合成之 34 條較長序列引子篩選試驗材料 (Blair *et al.* 1999)，則有 12 條呈現多型性且再現性良好。綜合上述結果，長序列 ISSR 引子對龍眼種原 DNA 多型性擴增結果較好。由此 15 個引子所獲得的 ISSR 產物在電泳膠片

上總共產生 149 個可辨識之條帶，其中多型性條帶 137 條占 92.5%。每個 ISSR 引子擴增的 DNA 條帶數在 4–15 條之間，條帶大小介於 250 bp 至 1750 bp。整體而言，所篩選的 ISSR 引子以 L1、L2、L3、L13、L22、UBC809 及 UBC890 等 7 組可產生 10 條以上的多型性條帶，效果最好 (表 3)。以 L10 引子進行 PCR 反應結果獲得 6 條多型性片段，其中包含可供鑑別紅殼龍眼品種的特殊片段 (850 bp) (圖 1 及表 4)。L13 引子擴增結果產生 10 條多型性 DNA 片段，其中 900 bp 之片段為粉殼龍眼品種標誌之特定條帶 (圖 2 及表 4)，總計 15 條逢機引子擴增結果共獲得 L9 (900)、 L13 (900)、 L23 (480)、 L10 (850)、L8 (400) 等 5 條多型性 DNA 片段，可以作為紅殼、粉殼及 Ponyai 龍眼品種的鑑別標誌 (表 4)。

表 3. 15 個 ISSR 引子在龍眼及荔枝品種上擴增結果

Table 3. Observed polymorphism with 15 primers used for ISSR analysis in longan and litchi cultivars

Primer code	Primer sequence 5'→3'	No. of polymorphic bands	No. of amplified bands	Band size (bp)	
				Min.	Max.
L1	$(AG)_8GT$	11	11	250	1300
L2	$GSG(GT)_6$	14	12	250	1700
L3	$CCA(GTG)_4$	10	10	330	950
L4	$DBD(CA)_6$	4	4	430	900
L8	$(GA)_9A$	8	7	330	800
L9	$(GA)_9C$	9	8	430	1050
L10	$(GA)_9T$	7	6	550	1400
L11	$CCGGATCC(GA)_9$	8	8	400	1600
L13	$CCGGATCC(GT)_9$	11	10	380	1000
L22	$GATC(GTAG)_7$	15	15	280	1100
L23	$GATC(AGTG)_7$	9	8	320	900
L26	$GATC(GACA)_7$	9	9	400	950
809	$(AG)_8G$	12	9	300	1050
881	$(GGGTG)_3$	9	9	600	1500
890	$VHV(GT)_7$	13	11	400	1750
Total		149	137		

表 4. 龍眼品種之特定 ISSR 片段

Table 4. Specific ISSR fragments of Longan cultivars by 134 primers

Cultivars	Primer revealing specific fragments (base pairs)
Fen Ke	L9 (900), L13 (900), L23 (480)
Hong Ke	L10 (850)
Ponyai	L8 (400)

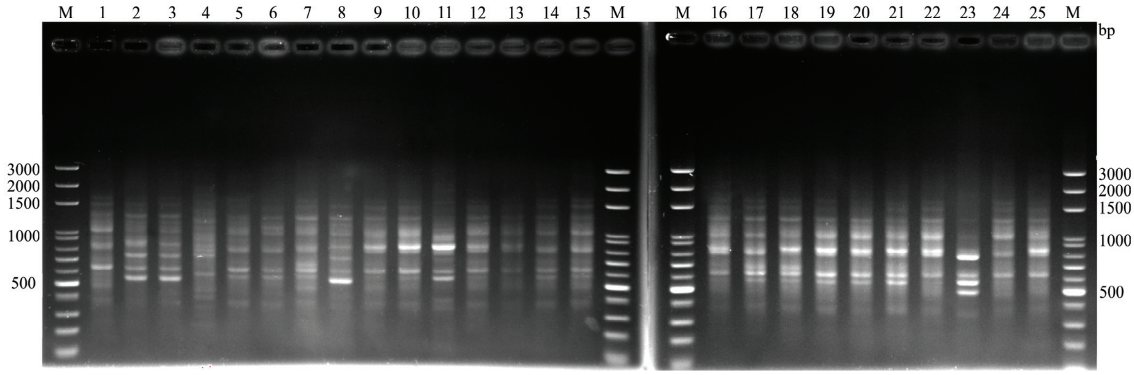


圖 1. 以 L10 為引子之 25 個龍眼及荔枝品種 ISSR 圖譜 (1–25 為品種代號，詳見表 1)。

Fig. 1. ISSR patterns of 25 longan and litchi cultivars obtained with primers L10. Line numbers at top refer to the number in Table 1. M: molecular weight marker (bp).

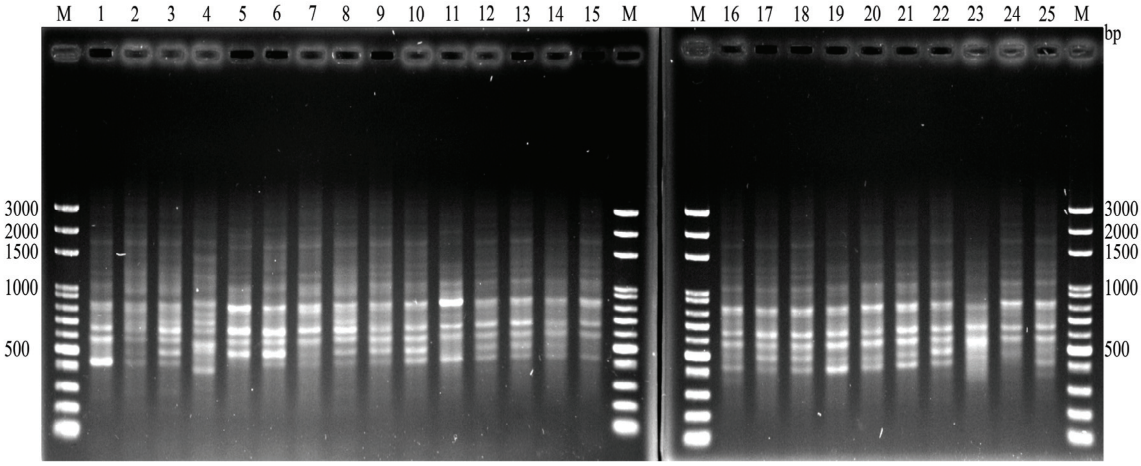


圖 2. 以 L13 為引子之 25 個龍眼及荔枝品種 ISSR 圖譜 (1–25 為品種代號，詳見表 1)。

Fig. 2. ISSR patterns of 25 longan and litchi cultivars obtained with primers L13. Line numbers at top refer to the number in Table 1. M: molecular weight marker (bp).

遺傳相似度及群集分析

將篩選得到的 15 條逢機引子，就其 ISSR 產物產生之 149 個可辨識之條帶，進行未加權平均法群集分析，並以 Jaccard 氏的相似度係數分析方法，來估算試驗品種間之遺傳相似度係數。再以相似度係數矩陣 (similarity coefficient matrix) (表 5) 繪製相似度樹狀圖 (dendrogram)，相似度係數越高代表親緣關係越近。分析結果顯示 24 個龍眼種原可分為 4 群，第一群包括 Bai Dum、Sak IP、Bai Kew、Carambo、E Wai、大烏圓、小核、十月小核、大粉殼 (I)、大粉殼 (II)、紹安寮、東山鳳梨味、Ponyai 等 13 個品種，其中來自泰國的 Bai Dum 與來自夏威夷的 Sak IP 成一亞群，來自泰國的 Bai Kew、E Wai

表 5. 25 個參試品種間的 ISSR 標誌相似性係數矩陣（1–25 為品種代號，詳見表 1）

Table 5. Matrix of similarity coefficients of ISSR markers among 25 cultivars of longan and litchi. Line numbers refer to the number in Table 1

ID	Cultivar ID No.																							
No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
1	1																								
2	0.3145	1																							
3	0.2485	0.4069	1																						
4	0.1263	0.1695	0.1808	1																					
5	0.1556	0.2036	0.2531	0.1319	1																				
6	0.1514	0.2047	0.1954	0.1657	0.4041	1																			
7	0.1554	0.2203	0.2316	0.1392	0.3694	0.3018	1																		
8	0.1842	0.1913	0.2717	0.1320	0.2123	0.2542	0.3034	1																	
9	0.1620	0.1686	0.2229	0.1319	0.1429	0.2275	0.2500	0.3152	1																
10	0.1467	0.1657	0.1977	0.1421	0.1469	0.2683	0.2386	0.3095	0.5379	1															
11	0.1436	0.1299	0.1543	0.1389	0.1180	0.1792	0.1444	0.1934	0.2284	0.2866	1														
12	0.1170	0.1093	0.1648	0.1751	0.1412	0.2321	0.2191	0.2807	0.3467	0.3758	0.2722	1													
13	0.1348	0.1747	0.1657	0.1905	0.1687	0.2209	0.2011	0.2057	0.2357	0.2313	0.2372	0.3517	1												
14	0.1337	0.1264	0.1500	0.1602	0.2071	0.2294	0.1838	0.1755	0.2515	0.2105	0.1734	0.2716	0.4143	1											
15	0.0942	0.1160	0.1148	0.1629	0.1686	0.1771	0.1739	0.1354	0.2407	0.2000	0.1976	0.2767	0.3265	0.3851	1										
16	0.1808	0.1813	0.2216	0.1311	0.2036	0.1908	0.1489	0.2179	0.2256	0.1525	0.0989	0.1341	0.1818	0.1714	0.1609	1									
17	0.2343	0.2590	0.1788	0.1204	0.1886	0.2102	0.2054	0.1968	0.1818	0.1405	0.1695	0.1538	0.2242	0.2114	0.1297	0.2981	1								
18	0.1977	0.2349	0.1897	0.1290	0.1930	0.2081	0.1838	0.1571	0.1930	0.1897	0.1534	0.1196	0.1314	0.1685	0.1022	0.2733	0.4621	1							
19	0.1976	0.1988	0.1677	0.1314	0.2000	0.2160	0.1695	0.1676	0.1294	0.1538	0.1302	0.1279	0.1071	0.1011	0.0904	0.2062	0.2987	0.3517	1						
20	0.1667	0.1737	0.1928	0.1105	0.1890	0.2422	0.1732	0.1977	0.1747	0.2000	0.1412	0.1657	0.1250	0.1056	0.1011	0.2405	0.2229	0.2675	0.4496	1					
21	0.1421	0.1744	0.1930	0.1189	0.1618	0.2638	0.1429	0.1658	0.1686	0.2071	0.2121	0.2156	0.1471	0.1202	0.1348	0.1412	0.1943	0.2202	0.3041	0.3517	1				
22	0.1397	0.1939	0.1706	0.1676	0.1598	0.2331	0.1593	0.1703	0.1807	0.1988	0.1818	0.1928	0.1377	0.1561	0.1322	0.2086	0.2515	0.2500	0.3147	0.2819	0.3311	1			
23	0.1548	0.1761	0.1595	0.1636	0.2157	0.1718	0.1754	0.1534	0.1481	0.1524	0.1280	0.1677	0.1765	0.2025	0.1688	0.2143	0.1617	0.1515	0.1410	0.1830	0.1265	0.1974	1		
24	0.1381	0.1637	0.1552	0.1657	0.2147	0.1667	0.1703	0.1813	0.1647	0.1686	0.1387	0.1834	0.1779	0.2024	0.2284	0.1706	0.1573	0.1160	0.1047	0.1353	0.1845	0.2357	0.2267	1	
25	0.1667	0.1250	0.1718	0.1345	0.1534	0.1092	0.1600	0.1850	0.1605	0.1863	0.1472	0.1801	0.2297	0.1497	0.1667	0.1887	0.1879	0.1566	0.1321	0.1582	0.1455	0.2349	0.1678	0.2483	1

與夏威夷的 Carambo 另成一亞群。中國大陸的大烏圓與 6 個台灣品種 [小核、十月小核、大粉殼 (I)、大粉殼 (II)、紹安寮、東山鳳梨味] 組成第三亞群，而佛羅里達 Ponyai 品種與第一群品種遺傳相似度較低，單獨成一亞群。第二群包括福眼、坙田、紅殼軟枝、紅殼硬枝、紅殼、楊桃葉、西公帽、Kahala 及銀角等 9 個品種，台灣品種福眼、坙田成一亞群，夏威夷品種 Kahala 與紅殼軟枝、紅殼硬枝、紅殼、楊桃葉、西公帽等五個台灣品種另成一亞群，中國大陸品種銀角與第二群品種遺傳相似度較低，單獨成一亞群。台灣品種粉殼及青殼與上述兩群品種的親緣關係較遠，單獨成為第三及第四群，對照的荔枝品種獨立成為第五群。在所分析的 24 個龍眼品種中，遺傳相似度係數介於 0.54–0.91 之間，紅殼硬枝和紅殼遺傳相似度係數為 0.91，親緣關係最近；青殼與其他龍眼品種之遺傳相似度係數為 0.54，親緣關係最遠。對照的荔枝品種與其他龍眼品種之遺傳相似度則為 0.44 (圖 3)。

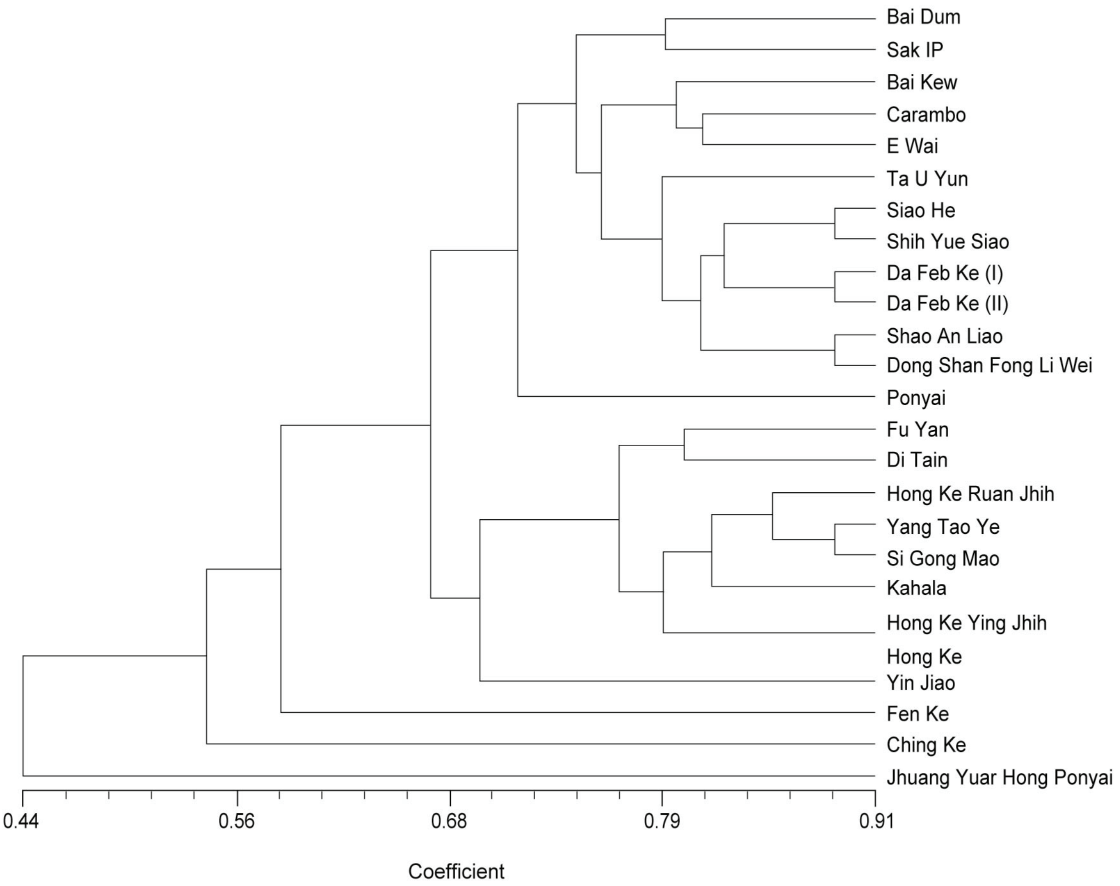


圖 3. 25 個龍眼及荔枝品種之 ISSR 遺傳相似度聚類分析樹狀圖。

Fig. 3. Dendrogram illustrating genetic relationship among 25 longan and litchi varieties, constructed by Jaccard's distance and UPGMA clustering method from 149 ISSR markers.

討論

利用 ISSR 分子標誌技術分析 24 個來自不同地區龍眼種原之遺傳相似度，由聚落分析圖得知，24 個龍眼品種遺傳相似度係數介於 0.54–0.91 之間。利用 RAPD 分子標誌技術分析本省桃、李種原之親緣關係，參試 30 個桃種原其遺傳相似度係數介於 0.73–0.93 (Wen & Chieh 2003)，所分析的 30 個李種原遺傳相似度係數則介於 0.32–0.94 之間 (Wen & Liu 2004)，可知參試龍眼種原的遺傳多樣性介於台灣蒐集保存的桃、李種原之間。

利用 100 條加拿大哥倫比亞大學所發展之 ISSR 引子擴增龍眼種原 DNA，僅有 3 條引子對試驗材料之 DNA 可呈現多型性且再現性良好 (UBC 809, 881, 890)，比例太低。34 條增加核苷酸重複數及改變引子兩端核苷酸數目之 ISSR 引子，在水稻 DNA 多型性擴增取得良好成果 (Blair *et al*. 1999)，以這些較長序列之 ISSR 引子篩選龍眼種原，則有 12 條呈現多型性且再現性良好，有效性高於 1/3。在 12 條可呈現多型性之引子中，改變 5’ 端核苷酸數目者有 8 條，增加 1 個核苷酸重複數的有 3 條，另 1 條為改變 3’ 端核苷酸數目 (表 3)。不同果樹間 SSR 分子標記通用性報導已有很多，Cipriani *et al*. (2001) 從桃中開發的引子在李、杏、櫻桃上亦成功得到擴增。Yamamoto *et al*. (2001) 將蘋果中分離的微衛星引子在梨的遺傳多樣性分析中也得到成功應用。Zheng *et al*. (2007) 應用棉花上開發的 SSR 引子在香蕉上得到了有效擴增，進一步說明 SSR 引子在植物間之通用性。本試驗印證在水稻擴增良好的 ISSR 引子，有 1/3 在龍眼品種亦得到良好結果，因此以 ISSR 分子標誌技術來分析植物間之遺傳相似性，可不再侷限於 UBC 發展出來之引子。

試驗所用龍眼種原，來自泰國的 Bai Dum、Bai Kew、E Wai、來自佛羅里達的 Ponyai 與來自夏威夷的 Carambo 和 Sak IP 集中在第一群構成三個亞組，夏威夷與泰國品種分散分佈，推測夏威夷品種的親本可能為泰國龍眼。大粉殼在產地依據果肉品質，果農把它分為兩種：品質好的與品質差的，但是名稱皆為大粉殼，遺傳相似度分析結果兩者為不同品種，為給消費者大粉殼為優良龍眼品種之印象，應將二者做出區隔。具有小核 (胚退化) 現象的兩個品種 (小核及十月小核) 聚集一起，顯示龍眼種子胚退化應為基因控制，育成大果小核的龍眼品種應為可行。夏威夷的 Kahala 與 5 個台灣龍眼品種構成第二群中的一亞群，推測 Kahala 的親本可能為台灣龍眼。大陸品種大烏圓與銀角都與台灣品種聚合成一亞群，但都與台灣品種明顯區隔，可以推論台灣龍眼品種來自大陸，但歷經幾百年來的人為選拔與演化已與大陸品種有所區隔。粉殼與青殼龍眼與其他參試龍眼品種遺傳相似度較低，在品種保存及雜交育種上都值得注意保存與運用。

誌謝

本試驗承蒙嘉義分所張哲瑋主任及王婉伶小姐提供部分龍眼種原材料，增加試驗材料多樣性及代表性，謹致無上謝忱。

引用文獻 (Literature cited)

Aga, E., E. Bekele, and T. Bryngelsson. 2005. Inter simple sequence repeat (ISSR) variation in forest coffee trees (*Coffea arabica* L.) populations from Ethiopia. Genetica 124:213–221.

Amel, S. H., T. Mokhtar, Z. Salwa, H. Jihène, M. Messaoud, R. Abdelmajid, and M. Mohamed. 2004. Inter simple sequence repeat fingerprints to assess genetic diversity in Tunisian fig (*Ficus carica* L.) germplasm. Genet. Resour. Crop Evol. 51:269–275.

Amel, S. H., C. Khaled, M. Messaoud, M. Mohamed, and T. Mokhtar. 2005. Comparative analysis of genetic diversity in two Tunisian collections of fig cultivars based on random amplified polymorphic DNA and inter simple sequence repeats fingerprints. Genet. Resour. Crop Evol. 52:563–573.

Arnau, G., J. Lallemand, and M. Bourgoin. 2002. Fast and reliable strawberry cultivar identification using inter simple sequence repeat (ISSR) amplification. Euphytica 129:69–79.

Blair, M. W., O. Panaud, and S. R. McCouch. 1999. Inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification for analysis of microsatellite motif frequency and fingerprinting in rice (Oryza sativa L.). Theor. Appl. Genet. 98:780–792.

Carrasco, B., P. Avila, J. Perez-Diaz, P. Muñoz, R. García, B. Lavandero, A. Zurita-Silva, J. B. Retamales, and P. D. S. Caligari. 2009. Genetic structure of highland papayas [*Vasconcellea pubescens* (Lennéet C. Koch) Badillo] cultivated along a geographic gradient in Chile as revealed by inter simple sequence repeats (ISSR). Genet. Resour. Crop Evol. 56:331–337.

Cipriani, G., M. T. Marrazzo, G. D. Gaspero, and R. Testolin. 2001. DNA microsatellite in fruit crops: isolation, length polymorphism, inheritance, somatic stability and cross-species conservation. Acta Hort. 546:145–150.

Council of Agriculture. 2008. Yearly Report of Taiwan's Agriculture. Taiwan. 365pp. (in Chinese)

Dai, H. Y., Z. H. Zhang, C. S. Shou, H. Li, and X. W. Guo. 2007. Establishment and optimization of ISSR syatem in *Crataegus* spp.. J. Fruit Sci. 24:313–318. (in Chinese with English abstract)

Fang, D. Q. and M. L. Roose. 1997. Identification of closely related citrus cultivars with inter simple sequence repeat markers. Theor. Appl. Genet. 95: 408–417.

Fu, Y., N. Luo, Q. Yang, Y. Q. Wang, Q. X. Deng, J. Q. Li, H. M. Qin, and G. L. Ruan. 2009. Establishment and optimization of ISSR reaction system for species of *Eriobotrya*. J. Fruit Sci. 26:180–185. (in Chinese with English abstract)

Guo, C. K., J. Li, W. S. Li, S. P. Luo, J. Yu, C. Li, and J. H. Shan. 2010. Indentification and genetic relationships of an ISSR marker for Fuji sport and main cultivars of apple planted in Xinjiang. J. Xinjiang Agric. Univ. 33:105–108. (in Chinese with English abstract)

Huang, X., S. Subhadrabandhu, S. K. Mitra, R. Ben-Arie, and R. A. Stern. 2005. Chapter 1. Origin, history, production and processing. p.1-23. *in*: Litchi and Logan. (Menzel, C. M. and G. K. Waite, eds.) CABI pub.

Ikegami, H., H. Nogata, K. Hirashima, M. Awamura, and T. Nakahara. 2009. Analysis of genetic diversity among European and Asian fig varieties (*Ficus carica* L.) using ISSR, RAPD, and SSR markers. Genet. Resour. Crop Evol. 56:201–209.

Jaccard, P. 1901. Study of comparative distribution of flower in the porition of Alpes and Jura. Bull. Soc. Vaudoise Sci. Nat. 37:547–549.

Masumbuko, L. I. and T. Bryngelsson. 2006. Inter simple sequence repeat (ISSR) analysis of diploid coffee species and cultivated *Coffea Arabica* L. from Tanaznia. Genet. Resour. Crop Evol. 53:357–366.

Monte-Corvo, L., L. Goulão, and C. Oliveira. 2001. ISSR analysis of cultivars of pear and suitability of molecular markers for clone discrimination. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 126:517–522.

Pan, H., X. H. He, Y. W. Li, Y. Z. Guo, and G. X. Huang. 2008. Genetic diversity of wild *Myrica* resources in Guangxi analysed by inter simple sequence repeats (ISSRs). J. Fruit Sci. 25:353–357. (in Chinese with English abstract)

Pan, K., W. Q. Wang, L. L. Tang, Y. Wu, and L. X. Tang. 2010. Analysis of the genetic diversity of coconut (*Cocos nucifera*) by inter simple sequence repeats (ISSR) technique. J. Fruit Sci. 27:238–243. (in Chinese with English abstract)

Wang, J. B., I. X. Wang, Z. J. Du, X. T. Lei, Y. Y. Chen, and B. Y. Xu. 2007. Analysis on the genetic relationship of some mango (*Mangifera indica* L.) germplasms by ISSR markers. Acta Hortic. Sin. 34:87-92. (in Chinese with English abstract)

Wang, J., Q. He, Y. Ou, G. I. Liang, B. He, Q. G. Guo, and S. Q. Xiang. 2008. Germplasm identification and phylogenetic analysis of plum using Issr marker. J. Fruit Sci. 25:182–187. (in Chinses with English abstract)

Wen, I. C. and T. C. Chieh. 2003. Genetic relationship analysis on peach germplasm by RAPD. J. Agric. Res. China 52:143–151. (in Chinese with English abstract)

Wen, I. C. and Y. L. Liu. 2004. Evaluation and genetic relationship analysis by RAPD on oriental plum germplasm. J. Agric. Res. China 53:97–110. (in Chinese with English abstract)

Wu, Z. L., L. Y. Fang, J. Wang, and Y. J. Shen. 2006. Analysis of genetic relationship of 15 *Vitis* germplasm resources by ISSR markers. J. Fruit. Sci. 23:605–608. (in Chinese with English abstract)

Yamamoto, T., T. Kimura, Y. Sawamury, K. Kotobuki, Y. Ban, T. Hayashi, and N. Matsuts. 2001. SSR$_s$ isolated from apple can identify polymorphism and diversity in pear. Theor. Appl. Genet. 102:865–870.

Yang, X. P, G. Liu, X. L. Hou, J. H. Xu, and C. Z. Cao. 2009. Polymorphism analyses of watermelon (*citrullus lanatus*) mapping parents using RAPD and ISSR molecular markers. Jiangu J. Agric. Sci. 25:1100–1107. (in Chinese with English abstract)

Ye, C. H., Y. H. Wang, Y. Z. Li, and F. Feng. 2009. Analysis of genetic diversity of Jackfruit germplasm using ISSR marking method. J. Fruit Sci. 26:659–665. (in Chinese with English abstract)

Yu, X. M. and C. X. Ai. 2007. Genetic diversity of wild *Mangifera indica* populations detected by ISSR. J. Fruit Sci. 24:219–333. (in Chinese with English abstract)

Zheng, L. S., Y. L. Yuan, J. Y. Wang, X. R. Ji, B. Z. Huang, and Y. T. Wu. 2007. Transferability of cotton SSR marker to *Musa.* J. Mol. Plant Breed. 5:557–672. (in Chinese with English abstract)

Zietkiewicz, E., A. Rafslski, and D. Labuda. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics 20:176–183.

行政院農業委員會農業試驗所 TAIWAN AGRICULTURAL RESEARCH INSTITUTE 1895

Genetic Diversity Analysis Using ISSR Marker on Longan (*Dimocarpus longan* Lour.) Germplasm[1]

Kung-Kuo Chiang[2], Ien-Chie Wen[2,3], Wei-Yu Lee[2], and Ching-Yi Chang[2]

Abstract

Chiang, K. K., I. C. Wen, W. Y. Lee, and C. Y. Chang. 2010. Genetic diversity analysis using ISSR marker on longan (*Dimocarpus longan* Lour.) germplasm. J. Taiwan Agric. Res. 59:185–196.

In order to have a better utilization of the longan (*Dimocarpus longan* Lour.) germplasm, the genetic relationships of 25 longan and litchi cultivars collected by the Taiwan Agricultural Research Institute were analyzed by using ISSR markers. A total of 134 primers were screened for their ability to produce strongly amplified products and 15 of them were selected postively. Out of 149 DNA bands amplified by these 15 primers, 137 of which were polymorphic (92.5%). A dendrogram based on the UPGMA cluster analysis was constructed. All tested 24 longan cultivars were divided into four groups, including 2 major groups of longan cultivars and 2 individual cultivar groups. Two major groups can be subdivided into seven subgroups. Cultivar Hong Ke Ying Jhih and Hong Ke had 91% similarity indexes, indicating the closest genetic relationship in the cultivar tested. Nevertheless, cultivar Ching Ke having only 54% similarity indexes with other tested longan cultivars indicted the farest genetic relationship to the rest longon cultivars. The litchi cultivar-Jhuang Yuan Hong had 44% similarity indexes with other 24 longan cultivars.

Key words: *Dimocarpus longan,* Genetic diversity, ISSR.

---

1. Contribution No. 2413 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: October 7, 2010.
2. Respectively, Technical Assistant, Senior Researcher and Director, Technical Assistant, Research Assistant, Plant Germplasm Division, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Corresponding author, e-mail: icwen@tari.gov.tw; Fax: (04)23390791.

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 59(3):197–208 (2010)

荔枝新品種‘台農 5 號 (紅寶石)’之育成[1]

張哲瑋[2,4] 顏昌瑞[3] 王婉伶[2] 劉茂南[2]

摘 要

張哲瑋、顏昌瑞、王婉伶、劉茂南。2010。荔枝新品種‘台農 5 號 (紅寶石)’之育成。台灣農業研究 59:197–208。

荔枝‘台農 5 號 (紅寶石)’是農業試驗所嘉義分所歷經 20 年選育而成，係‘妃子笑’之實生後裔，於民國 97 年 10 月通過農委會果樹品種審議委員會審議，並於民國 97 年 12 月取得品種權。本品種兼具高焦核率與產量高而穩定的特性，其焦核率介於 30%至 90%，而以 50%至 80%居多，每公頃產量在 12 t 以上。平均果重 18 g 至 20 g，果形長心形，果皮顏色紅色，果棘隆起，縫合線不明顯。果實採收期一般較‘黑葉’晚 7 至 14 天，約為 6 月下旬至 7 月上旬，但在南部屏東地區可採控梢處理調整產期至 5 月下旬。

關鍵詞：荔枝、台農 5 號、紅寶石、育種。

前 言

荔枝 (*Litchi chinensis* Sonn.) 為台灣重要的常綠果樹，栽培面積近 12,000 ha。台灣栽培品種以‘黑葉’為主，佔全部栽培面積 79% (Hsu 2008)，產期集中，由南部到中部不到 2 個月，造成產銷失衡，滯銷情形時有所聞，尤其中部地區常是果賤傷農。農業試驗所有鑑於此，於民國 71 年起擬定荔枝育種計畫，期能經由遺傳因子重組育成不同產期、高產、質優之品種，藉以改善荔枝生產事業 (Chang *et al.* 2008)。

荔枝‘台農 5 號 (紅寶石)’為農業試驗所嘉義分所繼‘台農 1 號 (翠玉)’ (Chang *et al.* 2005) 及‘台農 3 號 (玫瑰紅)’後 (Chang *et al.* 2009)，所選育出的第三個品種。本品種於民國 97 年 10 月 2 日獲得農委會果樹品種審議委員會審核通過，97 年 12 月正式取得品種權。由於本品種之果皮顏色鮮紅，果實長心形似寶石，故取名為‘紅寶石’。

材料與方法

本品種係採用多交 (poly cross) 方式經實生苗選拔而得，母本為種植於嘉義分所荔枝基因庫的‘妃子笑’ (與中國大陸的‘妃子笑’為同名異種)，可能的父本為‘沙坑’、‘糯米糍’、‘淮荔’或‘黑葉’。於民國 78 年取得種子後培育實生苗定植在分所之試驗果園，依一般栽培管理陸續進行選拔及各項試驗調查。

---

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2414 號。接受日期：99 年 10 月 18 日。
2. 本所嘉義分所副研究員兼園藝系主任、聘用助理研究員、技工。台灣 嘉義市。
3. 屏東科技大學農園生產系教授兼農學院院長。台灣 屏東縣。
4. 通訊作者，電子郵件：jerway@dns.caes.gov.tw；傳真機：(05)2773630。

實生苗培育與選拔

民國 80 年將實生苗以行株距 2.5 m × 0.5 m 密植於嘉義農業試驗分所果園。生育期間依一般荔枝栽培管理及病蟲害防治。民國 86 年起陸續開花結果，民國 86 年至 87 年共評估 97 個實生品系，選出品質較優良者 7 品系，包括‘台農 5 號 (紅寶石)’ (品系代號為 78-9-5-10)。選拔標準為單果重 20 g (含) 以上，具有焦核，可溶性固形物在 17°Brix (含) 以上，果實成熟期異於‘黑葉’。

品系種比較試驗

民國 89 年將表現優異之‘台農 5 號 (紅寶石)’與對照品種‘黑葉’進行比較試驗，供試植株為高壓苗，每品種系各為 5 株，行株距為 4 m × 3 m 並按一般栽培方法肥培管理及病蟲害防治。民國 96 年並取相鄰之嘉義分所荔枝品種園之‘妃子笑’之高壓株，5 株當作參考對照品種，行株距為 4 m × 3 m，株齡為 20 年。試驗調查項目為果實性狀。調查方法如下：

民國 92 年至 96 年度在著果期間，每株各掛 20 個標示牌，在預估果實採收期間，每株隔週取樣一次，共 3 次，每次每株於東南西北標示牌各取 1 串果實調查，果實調查項目包括果實之單果重、果皮重、果肉重、種子重、焦核率、可溶性固形物含量、酸度及結果數。焦核種子 (shriveled seed) 是胚發育過程中敗育所產生，種子外表有皺縮的現象，種子重在 0.1 g 以下。可溶性固形物含量係取每個果實搾汁，以屈折計 (N-1α, ATAGO Co. Ltd., Tokyo, Japan) 測定。酸度係每 5 個果實搾汁混合，取原液 5 mL 加去離子水定量至 100 mL，繼而以 0.1 N 的 NaOH 標準液滴定至 pH 8.3 之體積換算為琥珀酸 (succinic acid) 之百分比 (%)。以所有採收果實平均可溶性固形物最高的那一次採收當作適當採收期，及統計分析的依據。

區域試驗

‘台農 5 號 (紅寶石)’之區域試驗選在雲林縣古坑鄉及屏東縣高樹鄉兩處篤實農戶之荔枝園。在雲林試區對照品種為‘黑葉’、‘糯米糍’。種植日期為民國 87 年，試驗材料皆為高壓苗，種植行株距為 4 m × 4 m。各品系種逢機取 5 株，調查果實性狀及單株產量。調查方式與品系種比較試驗相同。唯民國 93 年起因試作農戶無法配合單株產量的調查，因此僅進行果實性狀的調查。

在屏東試區對照品種為‘玉荷包’。‘台農 5 號 (紅寶石)’與‘玉荷包’皆為嫁接株，砧木為 10 年生‘黑葉’高壓苗。供試品種系皆為 5 株，調查果實性狀，果實性狀調查方式與品系種比較試驗相同。

植物性狀檢定

檢定品種為‘台農 5 號 (紅寶石)’，對照品種為‘妃子笑’，植物性狀檢定項目參照台灣地區現有作物栽培品種名錄 (Chao 1999) 及農糧署公告之荔枝性狀調查表 (test guidelines)，檢定期間為民國 96 年至 97 年，檢定地點為農業試驗所嘉義分所試區及雲林試區。

本研究採完全逢機設計，所有試驗資料經由 SAS 套裝軟體 (SAS system for window 9.0, SAS Institute) 進行變方分析 (one way ANOVA) 及最小顯著差異性測驗 (LSD, $p = 0.05$)。

結　　果

實生苗初選

民國 86 年評估 45 個品系，民國 87 年評估 52 品系，二年共初選得品質優良者 7 品系，其中‘台農 5 號 (紅寶石)’於民國 86 年及 87 年表現皆佳，單果重約 20 g，種子重自 0.2 至 1.4 g，果肉率在 61.7%至 60.5%之間，可溶性固形物自 18.9°Brix 至 19.4°Brix 之間 (表 1)。

品系種比較試驗

‘台農 5 號 (紅寶石)’平均單果重介於 18 g 至 21 g 之間，與‘黑葉’及‘妃子笑’相近，‘台農

5 號 (紅寶石)’之果皮重介於 4 g 至 5 g 之間，顯著高於‘黑葉’及‘妃子笑’。‘台農 5 號 (紅寶石)’之種子重除民國 96 年平均為 1.9 g，其餘年度介於 0.6 g 至 1.2 g，此不及‘黑葉’及‘妃子笑’之一半。果肉率方面，民國 92 年至 94 年，‘台農 5 號 (紅寶石)’介於 70%至 75%，民國 95 年及 96 年則分別為 65%及 70% (表 2)。‘台農 5 號 (紅寶石)’之焦核率因年度而有很大的差異，介於 30%至 80%之間，‘黑葉’及‘妃子笑’則無焦核的現象。‘台農 5 號 (紅寶石)’之可溶性固形物含量介於 16°Brix 至 20°Brix 之間，果皮顏色為紅色 (表 2)。

在每結果枝的結果數方面，‘台農 5 號 (紅寶石)’介於 9 至 14 粒，顯著高於‘黑葉’之 6 至 10 粒。至於採收期，‘台農 5 號 (紅寶石)’為 6 月中下旬，此約較‘黑葉’晚 5 至 14 天，‘妃子笑’因開花情形很不整齊，不僅同株不同花序抽出時間不同，即使同一花序因有二次偏雌花的產

表 1. 民國 86 年至 87 年‘台農 5 號 (紅寶石)’果實品質性狀

Table 1. Fruit characteristics and harvest dates of litchi seedling of ‘Tainung No. 5 (Ruby)’ [z]

Year	FW (g) [y]	AW (g)	SeW (g)	AP (%)	TSS (°Brix)	HD (m/d)
1997	19.6	12.1	1.4	61.7	19.4	6/21
1998	20.0	12.1	0.2	60.5	18.9	6/22

[z] The material for trails were 8 years old seedling in 1997; data were mean of 20 fruits.
[y] Abbreviation, FW: Fruit weight; AW: Aril weight; SeW: Seed weight; AP: Aril percentage; TSS: Total soluble solids; HD: Harvesting date; m/d: month/day.

表 2. 嘉義農業試驗分所試區荔枝品種果實性狀及採收期比較

Table 2. Comparisons of fruit characteristics and harvest dates of ‘Tainung No. 5 (Ruby)’ and 2 comparable cultivars tested at Chiayi Agricultural Experiment Station [z]

Year	Cultivar	FW [y] (g)	PW (g)	AW (g)	SeW (g)	AP (%)	SS (%)	TSS (°Brix)	TA (%)	PC	Fruit no./ cluster	HD (m/d)
2003	Tainung No. 5 (Ruby)	18.5 b [x]	4.5 a	13.0 b	1.0 b	70.8 a	50 a	17.9 a	0.09 b	Bright red	12 a	6/23
	Hak Yip	21.0 a	3.7 a	14.8 a	2.5 a	70.5 a	0 b	18.3 a	0.14 a	Dark red	7 b	6/17
2004	Tainung No. 5 (Ruby)	19.7 a	4.7 a	14.5 b	0.6 b	73.3 a	80 a	20.3 a	0.11 a	Bright red	14 a	6/21
	Hak Yip	21.3 a	3.3 b	16.3 a	2.1 a	74.8 a	0 b	16.4 b	0.12 a	Dark red	8 b	6/14
2005	Tainung No. 5 (Ruby)	17.7 b	4.0 a	13.2 b	0.6 b	74.5 a	80 a	15.8 b	0.08 b	Bright red	8 a	6/23
	Hak Yip	22.9 a	3.3 b	17.3 a	2.3 a	75.6 a	0 b	17.3 a	0.11 a	Dark red	6 a	6/10
2006	Tainung No. 5 (Ruby)	18.8 a	4.6 a	13.0 a	1.2 b	69.7 b	55 a	16.8 a	0.03 a	Bright red	10 a	6/15
	Hak Yip	18.7 a	3.0 b	13.5 a	2.3 a	72.2 a	0 b	16.9 a	0.10 a	Dark red	6 b	6/15
2007	Tainung No. 5 (Ruby)	20.5 a	5.2 a	13.0 b	1.9 b	64.8 b	30 a	15.8 b	0.03 b	Bright red	9 a	6/25
	Hak Yip	21.2 a	4.0 b	15.2 a	2.2 ab	71.7 a	0 b	15.7 b	0.04 b	Dark red	6 b	6/20
	Fay Zee Siu	22.2 a	3.4 b	16.1 a	2.7 a	72.6 b	0 b	19.1 a	0.10 a	Yellowish light-red	9 a	6/27–7/3

[z] The materials for trails were 4 years old air layers at 2003.
[y] Abbreviation, FW: Fruit weight; PW: Peel weight; AW: Aril weight; SeW: Seed weight; AP: Aril percentage; SS: Shriveled seed percentage; TSS: Total soluble solids; TA: Titratable acidity; PC: Peel color; Fruit no./cluster: Fruit number per cluster; HD: Harvesting date; m/d: month/day.
[x] Means followed by the same letters at the same column within the same year were not significantly different at 5% level by LSD test.

生導致有公孫粒的現象，因此其果實採收期也就拖得很長，從 6 月下旬至 7 月上旬 (表 2)。

區域試驗

雲林試區試驗：‘台農 5 號 (紅寶石)’之平均單果重介於 12 g 至 20 g 之間，果皮重介於 2.6 g 至 5.5 g 之間，種子重介於 0.1 g 至 1.8 g 之間，焦核率介於 30%至 90%之間，果肉率介於 66%至 76%之間，可溶性固形物含量介於 16.1°Brix 至 19.9°Brix 之間。各項資料與‘黑葉’相較，單果重、果肉率及可溶性固形物含量等項目值因年度的不同而與‘黑葉’互有高低。種子重則顯著低於‘黑葉’，尤其在民國 91 年及 94 年，‘台農 5 號 (紅寶石)’不及‘黑葉’的三分之一。‘台農 5 號 (紅寶石)’之焦核在民國 91 年及 94 年分別為 74%及 90%，其餘年份則介於 66%至 71%之間，而‘黑葉’無焦核率 (表 3)。

在每結果枝的結果數方面，‘台農 5 號(紅寶石)’介於 7 至 16 顆著高於‘黑葉’之 5 至 12。在民國 91 年及 92 年的單株產量項目，‘台農 5 號 (紅寶石)’亦顯著較‘黑葉’為高，‘台農 5 號

表 3. 雲林試區荔枝品種果實性狀、單株產量及採收期比較

Table 3. Comparisons of fruit characteristics, yield and harvest dates of ‘Tainung No. 5 (Ruby)’ and 2 comparable cultivars tested at Yun Lin area trial [z]

Year	Cultivar	FW [y] (g)	PW (g)	AW (g)	SeW (g)	AP (%)	SS (%)	TSS (°Brix)	TA (%)	PC	Fruit no./ cluster	Yield (k/p)	HD (m/d)
2002	Tainung No. 5 (Ruby)	12.0 b [x]	2.6 a	8.8 b	0.6 b	73.8 a	74.0 a	16.1 b	0.19 a	Bright red	16.4 a	33.5 a	6/25
	Hak Yip	15.9 a	2.7 a	11.3 a	1.9 a	71.3 a	0.0 b	18.2 a	0.20 a	Dark red	12.4 b	19.0 b	6/04
2003	Tainung No. 5 (Ruby)	19.7 a	5.5 a	12.8 ab	1.3 bc	65.8 c	46.4 a	17.2 b	0.13 a	Bright red	9.0 a	58.0 a	6/25
	Hak Yip	20.4 a	2.9 b	15.2 a	2.2 a	74.5 b	0.0 b	17.9 b	0.15 a	Dark red	6.0 b	18.0 b	6/17
	No Mi Tsz	17.0 b	2.9 b	11.4 b	1.0 c	77.7 a	63.8 a	20.0 a	0.12 a	Light red	4.0 bc	10.4 c	7/03
2004	Tainung No. 5 (Ruby)	19.0 a	4.5 a	13.3 b	1.2 b	70.1 b	50.0 a	19.9 a	0.14 a	Bright red	13.0 a	—	6/21
	Hak Yip	21.1 a	3.3 b	15.7 a	2.1 a	74.4 a	0.0 b	17.1 b	0.12 a	Dark red	9.0 b	—	6/13
2005	Tainung No. 5 (Ruby)	16.3 b	3.7 a	12.3 b	0.1 b	75.6 a	90.0 a	17.9 a	0.16 a	Bright red	10.0 a	—	7/05
	Hak Yip	19.5 a	2.7 b	14.4 a	2.5 a	73.7 a	0.0 b	18.3 a	0.13 a	Dark red	6.0 b	—	6/24
2006	Tainung No. 5 (Ruby)	17.0 a	4.1 a	12.0 a	0.9 b	70.7 a	60.0 a	16.2 a	0.08 a	Bright red	7.0 a	—	6/23
	Hak Yip	18.0 a	3.0 b	13.1 a	1.9 a	72.8 a	0.0 b	16.1 a	0.06 a	Dark red	5.0 a	—	6/15
2007	Tainung No. 5 (Ruby)	20.1 a	5.0 a	13.3 a	1.8 a	66.2 b	35.0 a	16.8 a	0.07 a	Bright red	12.0 a	—	6/20
	Hak Yip	18.2 b	3.2 b	12.9 a	2.1 a	70.7 a	0.0 b	15.8 b	0.07 a	Dark red	8.0 b	—	6/20

[z] The material for trails were 4 years old air layers at 2002.

[y] Abbreviation, FW: Fruit weight; PW: Peel weight; AW: Aril weight; SeW: Seed weight; AP: Aril percentage; SS: Shriveled seed percentage; TSS: Total soluble solids; TA: Titratable acidity; PC: Peel color; Fruit no./cluster: Fruit number per cluster; HD: Harvesting date; k/p: kg/plant; m/d: month/day.

[x] Means followed by the same letters at the same column within the same year were not significantly different at 5% level by LSD test.

(紅寶石)’的採收期為 6 月下旬，平均較‘黑葉’約晚 1 週 (表 3)。

本試驗區之‘糯米糍’只有民國 92 年有結果，資料顯示‘糯米糍’之單果重顯著較‘台農 5 號 (紅寶石)’為輕，但果肉率、可溶性固形物等項卻顯著優於‘台農 5 號 (紅寶石)’，至於單株產量方面，‘糯米糍’不及‘台農 5 號 (紅寶石)’的 20% (表 3)。

屏東試區試驗：‘台農 5 號 (紅寶石)’之單果重介於 17 g 至 20 g 之間，果皮重約 4 g，種子重介於 1.2 g 至 1.9 g，果肉率介於 71%至 73%，焦核率介於 40%至 67%之間，可溶性固形物含量介於 19°Brix 至 20°Brix 之間。各項資料與‘玉荷包’相較，單果重與果肉率顯著低於‘玉荷包’，可溶性固形物含量則顯著高於‘玉荷包’。其他項目值因年度的不同而與‘玉荷包’互有高低 (表 4)。

在每結果枝之結果數方面，‘台農 5 號 (紅寶石)’為 8 至 10，約為‘玉荷包’的兩倍。‘台農 5 號 (紅寶石)’的採收期為 5 月下旬至 6 月上旬與‘玉荷包’相近。

‘台農 5 號 (紅寶石)’與‘妃子笑’植物性狀之差異性

根據「植物品種及種苗法」(第六版，2010)，申植物品種權時須填寫植物品種性狀檢定報告書，以證明申請品種與對照品種具有可區別性。對照品種一定要選擇形態上與申請品種最接近的品種，而非如品系種比較試驗及區域試驗般選擇最主要之商業品種。

與其他品種相較，‘台農 5 號 (紅寶石)’整體之植物性狀與其母本‘妃子笑’最為接近，因此取其當作對照品種，這 2 個品種之重要植物性狀及差異性狀如表 5，‘台農 5 號 (紅寶石)’與‘妃子笑’具有 21 項性狀具可區別性，其中重

表 4. 屏東試區荔枝品種果實性狀及採收期比較

Table 4. Comparisons of fruit characteristics and harvest dates of ‘Tainung No. 5 (Ruby)’ and ‘Yu Her Bau’ at Pingtung area trial [z]

Year	Cultivar	FW [y] (g)	PW (g)	AW (g)	SeW (g)	AP (%)	SS (%)	TSS (°Brix)	TA (%)	PC	Fruit no./ cluster	HD (m/d)
2004	Tainung No. 5 (Ruby)	17.8 b [x]	3.9 a	12.7 b	1.2 a	72.3 b	65 a	20.3 a	0.15 a	Bright red	8 a	5/27
	Yu Her Bau	21.8 a	3.7 a	16.6 a	1.5 a	76.2 a	60 a	17.6 b	0.10 a	Greenish red	4 b	5/27
2005	Tainung No. 5 (Ruby)	17.1 b	3.9 a	12.1 b	1.1 a	71.4 a	67 a	20.5 a	0.15 b	Bright red	10 a	6/06
	Yu Her Bau	19.6 a	4.1 a	15.1 a	1.1 a	73.5 a	57 b	18.8 b	0.27 a	Greenish red	5 b	6/06
2006	Tainung No. 5 (Ruby)	20.1 a	4.1 a	14.6 b	1.4 a	73.0 b	45 a	18.7 a	0.10 a	Bright red	9 a	5/26
	Yu Her Bau	22.0 a	4.1 a	16.9 a	0.9 b	76.6 a	58 a	18.3 a	0.20 a	Greenish red	5 a	5/17
2007	Tainung No. 5 (Ruby)	20.1 b	4.0 a	14.2 b	1.9 a	71.2 b	40 b	19.6 a	0.10 a	Bright red	10 a	5/29
	Yu Her Bau	23.8 a	3.5 a	19.4 a	0.9 b	81.4 a	60 a	17.6 b	0.10 a	Greenish red	4 b	6/08

[z] The material for were grafted in 2002, the root stocks were ‘Hak Yip’ air layer plants.
[y] Abbreviation, FW: Fruit weight; PW: Peel weight; AW: Aril weight; SeW: Seed weight; AP: Aril percentage; SS: Shriveled seed percentage; TSS: Total soluble solids; TA: Titratable acidity; PC: Peel color; Fruit no./cluster: Fruit number per cluster; HD: Harvesting date; m/d: month/day.
[x] Means followed by the same letters at the same column within the same year were not significantly different at 5% level by LSD test.

表 5. ‘台農 5 號 (紅寶石)’與‘妃子笑’荔枝物候期與植物性狀比較
Table 5. Phenology and characteristics of ‘Tainung No. 5 (Ruby)’ and ‘Fay Zee Siu’ [z]

Phenology and characteristics	‘Tainung No. 5 (Ruby)’	‘Fay Zee Siu’
Tree		
Crown shape	Dome shaped	Dome shaped
Trunk surface colour	Gray	Gray
Tree growth habit	Spreading	Spreading
Tree vigour	Vigorous	Vigorous
Leaf		
Leaflet number	3–4	3–4
Leaflet length (cm)	15.4 ± 2.3	16.6 ± 1.6
Leaflet width (cm)	3.4 ± 0.4	3.9 ± 0.7
Length/ width of leaflet	4.6 ± 0.5	4.3 ± 0.8
New leaflet colour	Light green	**Brown red** [y]
Mature leaflet surface colour	Dark green	**Green**
Leaflet blade shape	Lanceolate	Lanceolate
Leaflet apex shape	Long-acuminate	Long-acuminate
Leaflet base shape	Cuneate	Cuneate
Leaflet margin	Entire	**Undulate**
Flower		
Length of inflorescence (cm)	18.8 ± 4.0	11.4 ± 4.5
Flower bud density	Sparse	**Dense**
Split number of stigma	2	2
Attitude of splitting stigma	Rolling	**Arc-shaped**
Colour of deteriorational stigma top	Brown	**Red brown**
Fruit		
Weight of per fruit (g)	18.7 ± 2.5	22.2 ± 2.0
Uniformity	uniform	uniform
Fruit shape	Long cordate	**Conical**
Mature fruit peel color	Bright red	**Yellowish light-red**
Fruit shoulders	Apophysis	**Even**
Shape of protuberance	Protruding	**Even**
Presence of suture	Unobviously	Unobviously
Peel weight (g)	4.42 ± 0.7	**3.4 ± 0.4**
Color of aril	Waxy white	Waxy white
Aril texture	Firm	Firm
Aril juiciness	Medium	Medium
Aril flavor	sweet	sweet

行政院農業委員會農業試驗所 TAIWAN AGRICULTURAL RESEARCH INSTITUTE 1895

表 5. '台農 5 號 (紅寶石)'與'妃子笑'荔枝物候期與植物性狀比較 (續)
Table 5. Phenology and characteristics of 'Tainung No. 5 (Ruby)' and 'Fay Zee Siu' [z] (continue)

Phenology and characteristics	'Tainung No. 5 (Ruby)'	'Fay Zee Siu'
Aril fragrance	Light fragrant	Light fragrant
Edible percentage of fruit (%)	71.2 ± 3.2	72.6 ± 2.1
Total soluble solids content (°Brix)	18.0 ± 1.6	19.0 ± 0.8
Quality	Excellent	**<u>Medium</u>**
Seed		
Weight per seed (g)	1.1 ± 0.5	**<u>2.7 ± 0.5</u>**
Percentage of chicken tongue seed fruits (%)	60.0 ± 18.0	**<u>0</u>**
Seed coat color	Brown	Brown
Shape of seed	Elliptic, chicken tongue	**<u>Elliptic</u>**
Phenology		
Date of inflorescence emerging	Middle January	**<u>Late January</u>**
Date of male flowering	Early April	**<u>Late March</u>**
Date of female flowering	Early April	**<u>Middle April</u>**
Date of functional male flowering	Middle April	**<u>Late April</u>**
Date of late flowering	Middle April	**<u>Late April</u>**
Date of fruit maturity	Late June to early July	**<u>Middle July</u>**
Disease reaction		
Downy blight	Susceptibility	Susceptibility
Pest reaction		
Litchi fruit borer	Susceptibility	Susceptibility
Storage (5℃)		
Day of storage (5℃)	21	21

[z] The material were tested at Chiayi Agriculture Experimental Station, TARI (2007 to 2008).
[y] The words with under line mean the characteristic of this variety is different from Tainung No. 5.

要差異如下：(1) 葉片：'台農 5 號 (紅寶石)'葉色較'妃子笑'濃綠，'台農 5 號 (紅寶石)'之葉緣姿態為平展，而'妃子笑'則為波浪紋或向內卷；另外'台農 5 號 (紅寶石)'之嫩葉葉色為淡綠色，而'妃子笑'則為棕紅色。(2) 花：'台農 5 號 (紅寶石)'之柱頭形狀為圓卷裂，而'妃子笑'為平裂。(3) 果實：'台農 5 號 (紅寶石)'的果形為長心形、果皮紅色、果肩及果棘隆起，而'妃子笑'的果形為圓錐形、果皮色澤淡紅帶微黃、果肩平及果棘平滑。另'台農 5 號 (紅寶石)'的果皮顯著較'妃子笑'為重。(4) 種子：'台農 5 號 (紅寶石)'因具有 60%左右的焦核率，所以其種子有兩種型態，焦核的雞嘴形與非焦核的橢圓形，而'妃子笑'無焦核現象，其種子為橢圓形。

討 論

荔枝產量不穩定是荔枝產業的重要問題之一 (Menzel 1983, 1984; Stern & Gazit 2003)，尤以焦核品種為甚。焦核品種較大核品種產量低

的原因在於焦核品種常有 4–5 個生理落果高峰，相對的大核品種只有 3 個，此外焦核果實較大核果實對不利環境 (風、雨、乾旱、高溫等) 更為敏感，因此，若遇不利環境，焦核品種的落果更為嚴重 (Li 2008)。焦核荔枝由於很受到市場的喜愛 (Galan-Sa’uco & Menini 1989)，因此，焦核率的高低常是評估品種果實品質好壞的重要指標之一。所以，焦核率高而產量穩定的品種一直是各國的荔枝育種目標 (Shen 1984; Menzel & Simpson 1990; Chang *et al.* 2008)，而‘台農 5 號 (紅寶石)’正是兼具有豐穩產及高焦核的品種。經過 10 年在嘉義、雲林、屏東等 3 個地區試驗結果顯示，每結果枝平均結果數達 7 粒至 13 粒，此不僅明顯高於‘玉荷包’及‘糯米糍’，亦高於‘黑葉’及‘妃子笑’，由於各年期各試區差異不大 (表 2、3、4)，顯示其結果情形良好而穩定。

‘台農 5 號 (紅寶石)’之焦核率介於 30% 至 90% 之間，而以 50% 至 80% 居多 (表 2、3、4)，因此，其為焦核品種無庸置疑，雖然其焦核率並不穩定，但以高焦核率著稱之‘糯米糍’，在嘉義分所的系列試驗中亦有 0% 至 64% 的變異 (Chang *et al.* 2009)。荔枝焦核品種焦核率不穩定的原因，目前有兩種較可能的假說，其一為花粉效應 (Pollen parent effect)，即非焦核品種授粉於焦核品種所致，在以色列，以非焦核品種‘Mauritius’授粉於焦核品種‘Floridan’，將導致‘Floridan’之著果率及種子重量均顯著增加 (Stern *et al.* 1993)；其二為環境因子，在花器發育期間，外在的溫度及水分會影響偏雌花胚囊中胚珠的完整性 (Menzel & Simpson 1994)。在我國，盛花期高溫乾旱，‘糯米糍’的焦核率會大幅降低 (Chang 2002, 2004)。‘台農 5 號 (紅寶石)’的焦核率在同年期不同試區焦核率變化小，但在不同年期之間變化則較大 (表 2、3、4)。另在供試的 3 個試區中，品系種比較試驗位於嘉義分所荔枝園，園內含 15 個品種及數百個實生品系，而雲林試區的果園除‘台農 5 號 (紅寶石)’、‘黑葉’、‘糯米糍’外尚有 7 個品系種，屏東試區的果園品種較單純，除‘台農 5 號 (紅寶石)’外，其餘絕大部份為‘玉荷包’，而在該試區這兩品種花期極為接近，且‘玉荷包’亦為焦核品種。但在同一年期，屏東試區‘台農 5 號 (紅寶石)’的焦核率並不會比其餘兩試區高 (表 2、3、4)。此外在試驗期間，雲林試區‘台農 5 號 (紅寶石)’於民國 91 年及 94 年之焦核率明顯高於其他年度。此兩年荔枝花期及果實發育期間之氣候相對於其他年份之同時期較為乾旱 (中央氣象局雲林大埔觀測站)，而雲林試區無灌溉設備。因此，‘台農 5 號 (紅寶石)’焦核率因不同年期而有些變化的現象，可能非單純的花粉效應，而與受氣候環境亦有相關。

‘台農 5 號 (紅寶石)’的果皮重顯著較同果形大小之其他品種如‘黑葉’之果皮重為高 (表 2、3)。此特點導致其果肉率不及其他焦核品種如‘糯米糍’，甚至在焦核率低的年期，其果肉率還不及‘黑葉’。然在果實生產上，果皮薄，存在相當程度裂果的風險，此現象尤其以晚熟品種較為嚴重，例如中國大陸的‘糯米糍’為著名的晚熟、焦核、薄皮品種，其果肉率可達 84%，但相對的其裂果率可達 70% (Zang 1997)，我國的‘糯米糍’其裂果率亦可達 40% (Chang 2008)。反觀‘台農 5 號 (紅寶石)’在這多年的試驗並未發現裂果的現象，而此亦為該品種最終產量高的原因之一。

‘台農 5 號 (紅寶石)’的採收期在中部約為 6 月下旬至 7 月上旬，此約較‘黑葉’晚 7 至 14 天，但在南部屏東為 5 月下旬採收 (表 2、3、4)，此與‘玉荷包’很接近，由於在屏東試區之園主採取與‘玉荷包’相同的控梢方式，因此本品種可藉緯度之差異及栽培技術而略為調整產期。

‘台農 5 號 (紅寶石)’特性

綜合各試區的試驗結果及品種性狀之檢定(表 5)，顯示‘台農 5 號 (紅寶石)’具有如下特性：(1) 新梢呈淡綠色 (圖 1A)。(2) 小葉狹長而窄，葉片長寬比值約 4.5，此較其他品種高；小葉外形呈披針形；葉緣姿態平展 (圖 1D)。(3) 花序短，花序分枝疏 (圖 1C)，雌蕊柱頭形狀成圓卷裂 (圖 1E)。(4) 同一植株小花開放時期一致，同一花序少有二輪花，因此產期一致，不會有公孫粒的現象，栽培管理容易 (圖 1B)。(5) 果實為長心形，果皮顏色為紅色，果棘隆起，縫合線不明顯 (圖 2A)。(6) 平均單果重介於 16 g 至 21 g，而以 18 g 至 20 g 居多；平均種子重介於 0.1 g 至 1.9 g，而以 0.6 g 至 1.2 g 居多；焦核率介於 30%至 90%，而以 50%至 80%居多，焦核的種子型態主要為雞嘴形，大核的種子型態主要為橢圓形 (圖 2B)。(7) 產量高而穩定，結果枝平均結果數可達 13 粒，估算每公頃產量在 12 t 以上 (圖 2C)。(8) 果實採收期一般較黑葉晚 7–14 天，約為 6 月下旬至 7 月上旬；但可藉著緯度的差異及控梢等栽培技術調整產期至 5 月下旬。

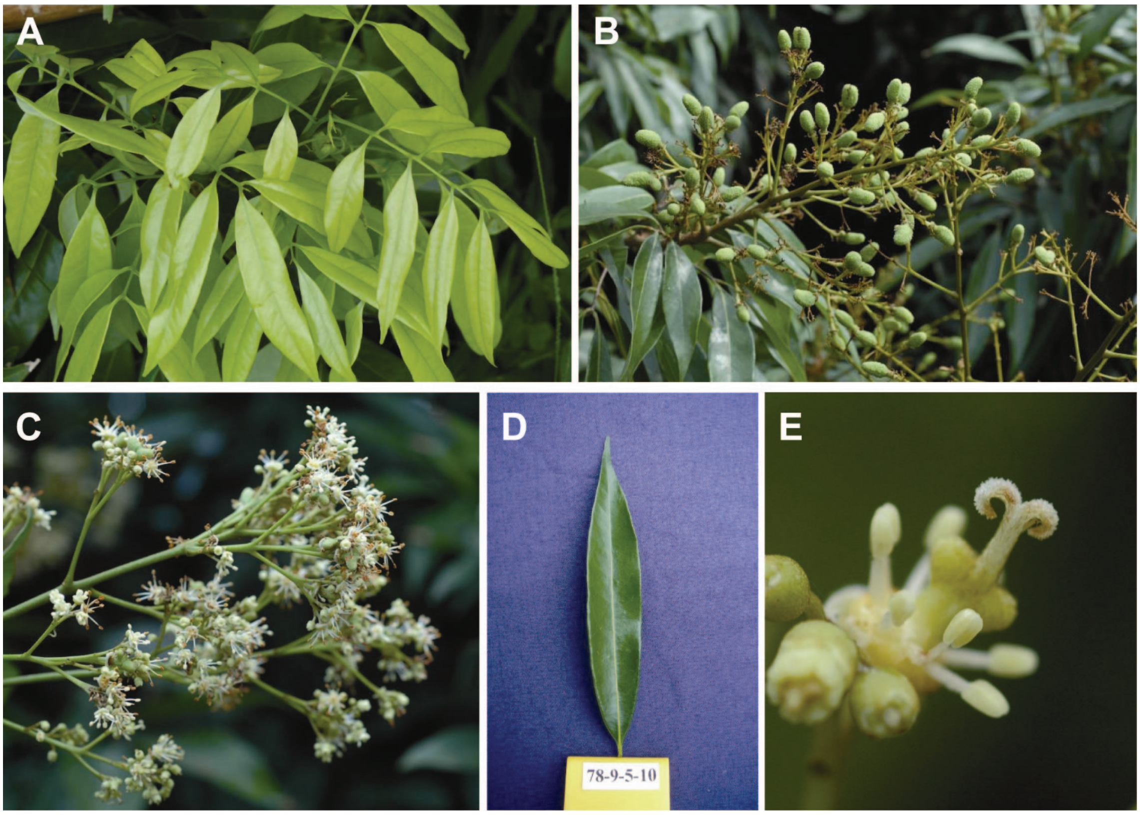


圖 1. 荔枝‘台農 5 號 (紅寶石)’之植株外觀。(A) 新梢呈淺綠色；(B) 著果整齊；(C) 短而疏之花序；(D) 小葉披針形；(E) 圓卷裂之雌蕊柱頭。

Fig 1. The plant appearance of litchi‘Tainung No.5 (Ruby)’. (A) the leaflet color is light green; (B) the fruiting is not a problem; (C) the inflorescence is short and sparse; (D) the leaflet blade shape is lanceolate; (E) the attitude of splitting stigma is rolling.

圖 2. 荔枝‘台農 5 號 (紅寶石)’之果實特性。(A) 果實紅色長心形；(B) 焦核 (左) 與正常 (右) 之種子；(C) 產量高。

Fig 2. The fruit characteristics of ‘Tainung No.5 (Ruby)’. (A) the fruit is long cordate shaped with a bright red peel; (B) fruit with shriveled seeds (left) and normal seeds (right); (C) the yield is abundant.

在傳統的觀念果實焦核率高的品種，常伴隨著產量低，栽培不易，而這嚴重影響了農友栽培的意願。然本所嘉義分所選育的荔枝優良品種‘台農 5 號 (紅寶石)’卻同時具有高焦核率，產量高而穩定，栽培容易的優點，此外果皮鮮紅，果實品質佳亦符合傳統上對好荔枝品種的要求，而產期可調節的特性亦有助於舒解我國荔枝產業長期以來因產期集中導致產銷失衡的問題，進而增加農友栽培的意願。

誌　謝

本研究承蒙行政院農業委員會經費補助，嘉義分所楊宏仁分所長指導病害調查，洪士程先生進行蟲害調查，作物組王怡玎博士進行貯藏試驗，方明義先生、邱顯政先生、何昭吉先生、魏佩瑩小姐協助田間管理，葉育琪小姐協助果實品質分析、育種資料整理，劉正信先生及蔡門興先生協助區域試驗，在此一併誌謝。

引用文獻 (Literature cited)

Chang, J. C. 2002. Patterns of fruit development and cultivation technique of ‘No Mai Tsz’ litchi. Agric. world 229:98–105. (in Chinese)

Chang, J. C. 2004. The technique of regular and heavy yield in ‘No Mai Tsz’ litchi production. Agric. world 256:68–77. (in Chinese)

Chang, J. C. 2008. Physiological aspect and research progress on improvement of ‘No Mai Tsz (73-S-20)’ litchi production in Taiwan. p.95–114. *in* the Proceedings of Symposium on Lychee Industry and Development in Taiwan. Department of Plant Industry, National Pingtung University of Science and Technology. Pingtung. (in Chinese with English abstract)

Chang, J. W., Y. H. Cheng, C. R. Yen, H. T. Hsu, C. N. Chao, Y. J. Tien, C. C. Ho, and C. Y. Lin. 2005. A new variety of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) “Tainung No. 1” J. Taiwan Agric. Res. 54:43–53. (in Chinese with English abstract)

Chang, J. W., Y. S. Teng, and C. R. Yen. 2008. Taiwan litchi breeding. p.65–78. *in* the Proceedings of Symposium on Lychee Industry and Development in Taiwan. Department of Plant Industry, National Pingtung University of Science and Technology. Pingtung. (in Chinese with English abstract)

Chang, J. W., C. R. Yen, H. T. Hsu, W. L. Wang, W. H. Tsai, Y. H. Cheng, and C. C. Ho. 2009. A new variety of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) “Tainung No. 3” Rose Red. J. Taiwan Agric. Res. 58:208–218. (in Chinese with English abstract)

Chao, C. N. 1999. Litchi. p.2. *in*: Compendium of Crop Cultivars in Taiwan. Ever-green Fruits. (Council of Agricultural, Executive Yuan, ed.) Council of Agricultural, Executive Yuan Pub. Taipei, Taiwan. (in Chinese)

Galan-Sa’uco, V. and U. G. Menini. 1989. Litchi Cultivation. Food and Agriculture Organization of United Nation. Rome.136 pp.

Hsu, T. L. 2008. Lychee production in Taiwan. p.5-11. *in* the Proceedings of Symposium on Lychee Industry and Development in Taiwan. Department of Plant Industry, National Pingtung University of Science and Technology. Pingtung. (in Chinese with English abstract)

Li, J. G. 2008. Litchi fruit development. p.221–241. *in*: The Litchi. (Li, J. G., ed.) China Agriculture Press. (in Chinese)

Menzel, C. M. 1983. The control of floral initiation in lychee: a review. Sci. Hortic. 21:201–215.

Menzel, C. M. 1984. The pattern and control of reproductive development in lychee: a review. Sci. Hortic. 22:333–345.

Menzel, C. M. and D. R. Simpson. 1990. Performance and improvement of Lychee cultivars. Fruit Varieties J. 44:197–215.

Menzel, C. M. and D. R. Simpson. 1994. Lychee. p.123–145. *in*: Handbook of Environmental Physiology of Fruit Crops. Vol II. Subtropical and Tropical Crops. (Schaffer, B. and Anderson, P. C., eds.) CRC Press.

Shen, T. S. 1984. Litchi breeding. p.346–354. Fruit Breeding. (Shen, T. S., ed.) Agriculture press. Mailand China. (in Chinese)

Stern, R. A., S. Gazit, R. El-Batsri, and C. Degani. 1993. Pollen parent effect on outcrossing rate, yield, and fruit characteristics of 'Floridian' and 'Mauritius' lychee. J. Am. Soc. Hort. Sci. 118:109–114.

Stern, R. A. and S. Gazit. 2003. The reproductive biology of the lychee. Hort. Rev. 28:393-453.

Zhang, Z. 1997. Main cultivars in Guangdong. p.18–47. *in*: Litchi Pictorial Narration of Cultivation. (Zhang, Z., ed.) Guangdong Economic Press.

行政院農業委員會農業試驗所
TAIWAN AGRICULTURAL RESEARCH INSTITUTE
1895

A New Litchi Cultivar 'Tainung No. 5 (Ruby)' [1]

Jer-Way Chang[2,4], Chung-Ruey Yen[3], Wan-Ling Wang[2], and Mau-Nan Lu[2]

Abstract

Chang, J. W., C. R. Yen, W. L. Wang, and M. N. Lu. 2010. A new litchi cultivar 'Tainung No. 5 (Ruby)'. J. Taiwan Agric. Res. 59:197–208.

'Tainung No. 5 (Ruby)' litchi, a new cultivar which was selected from the progeny of 'Fay Zee Siu' (female parent) in 1989, has been released in December, 2008 by the Chiayi Agricultural Experiment Station, Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Taiwan. 'Tainung No. 5 (Ruby)' produces abundant yield (more than 12 t/ha of 5-year-old trees) of fruit that weigh around 18–20 g with long cordate shape, bright red peel color, protruding protuberance and unobvious suture. In addition, there are two attractive characteristics in 'Tainung No. 5 (Ruby)' when it is compared with other main commercially available litchi cultivars: (1) it bears the fruit that have 50% to 80% of shriveled seeds; and (2) its cropping is regular. Fruit were harvested from late June to early July, about 7–14 days later than 'Hak Yip', which is currently the most planted cultivar in Taiwan. However, its ripening season could be forced to late May at Pingtung, which located in southern Taiwan, once suitable cultivation practices are used.

Key words: Litchi, Tainung No. 5, Ruby, Breeding.

---

1. Contribution No. 2414 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: October 18, 2010.
2. Respectirety, Associate Horticulturist and Head, Assistant Horticulturist, and Technician, Department of Horticultare, Chiayi Agricultural Experiment Station, TARI, Chiayi, Taiwan, ROC.
3. Professor and Dean of College of Agriculture, National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung, Taiwan, ROC.
4. Corresponding author, e-mail: jerway@dns.caes.gov.tw; Fax: (05)2773630.

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 59(3):209–218 (2010)

砧木種類對桶柑植株生長、產量與品質的影響[1]

黃阿賢[2] 洪士程[3,4]

摘　要

黃阿賢、洪士程。2010。砧木種類對桶柑植株生長、產量與品質的影響。台灣農業研究 59:209–218。

桶柑嫁接於 7 種砧木定植於苗栗獅潭，調查砧木種類對植株生長、產量與果實品質的影響。定植後 4 至 5 年間有 40.0%酸橙砧與 5.6%柚砧植株因衰弱而淘汰，第 7 年檢定萎縮病 (tristeza)，結果顯示以酸橙或柚作為砧木的植株為感病，但柚砧者較耐病，其他 5 種類包括酸橘、美女橘、粗皮檸檬、Troyer 枳橙及 Swingle 枳柚作為桶柑砧木，無論感染與否，外觀均無顯著差異，應屬於耐病或抗病。定植後第 5 至第 10 年之產量，Troyer 枳橙砧者最高，其次為美女橘與粗皮檸檬，Swingle 枳柚與酸橙又次之，酸橘及柚最低。比較第 8 至第 10 年間之果實品質，處理間主要差異為，粗皮檸檬砧之果汁率、可溶性固形物含量及含酸量均最低，3 年中分別有 2 年達顯著差異。品質特性之主要項目在其他 6 種砧木間之差異較小，其高低在各年之間也不一致。

關鍵詞：桶柑、砧木、產量、果實品質、萎縮病。

前　言

柑橘栽培普遍採用根砧，重要的柑橘砧木種類包括酸橙、粗皮檸檬、枳殼、枳橙、枳柚、廣東檸檬、酸橘、美女橘、柚類、甜萊姆等。各柑橘品種與主要砧木種類間多具嫁接親和性。柑橘之砧木試驗以甜橙及葡萄柚居多。栽培上，根砧對植株的影響主要包括植株生長勢強弱、果實品質與產量之高低，以及對疫病、線蟲及萎縮病 (tristeza) 等病害的耐病性等 (Davies & Albrigo 1994; Hwang 2000; Wutscher 1979)。桶柑屬橘橙 (Tangor)，台灣目前栽培者，為在宜蘭發現之無籽變異品種，所使用之砧木主要是酸橘與廣東檸檬，但相關的砧木試驗報告甚少。Weng (1973) 調查嫁接於 4 種不同砧木之桶柑果實品質差異，廣東檸檬砧之糖酸含量略低，酸橘、枳殼與美女橘三者之含量相近。同屬橘橙之茂谷柑產量以嫁接於廣東檸檬及粗皮檸檬砧者較高，枳殼及 Swingle 枳柚中等，酸橘及酸橙較低，果實品質的主要差異為可溶性固形物及含酸量，枳殼及其雜交種可溶性固形物及含酸量較高，酸橘及酸橙中等，

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2423 號。接受日期：99 年 10 月 25 日。
2. 本所嘉義分所園藝系副研究員。台灣　嘉義市。
3. 本所嘉義分所植物保護系助理研究員。台灣　嘉義市。
4. 通訊作者，電子郵件：sch@dns.caes.gov.tw；傳真機：(05)2773630。

柚、廣東檸檬及粗皮檸檬最低 (Hwang & Hung 2007)，另有試驗結果顯示砧木種類對茂谷柑果實品質並無顯著影響 (Figueiredo *et al*. 2006)，也有報告指出以廣東檸檬或 Volkamerianna 為砧木者品質較差 (Ashkenazi 1992)。本試驗調查不同砧木種類對桶柑植株生長、果實產量與品質的影響，作為栽培改進之依據。

材料與方法

材料

桶柑 (*Citrus tankan* Hay.) 接穗採自農試所嘉義分所之健康種原，嫁接於酸橘 (*Citrus sunki* Hort. ex Tan.)、美女橘 (*C. reshni* Hort. ex Tan.)、柚 (*C. grandis* Osbeck) (麻豆文旦 × 紅文旦)、粗皮檸檬 (*C. jambhiri* Lush.)、Troyer 枳橙 [*C. sinensis* (L.) Osbeck × *Poncirus trifoliata* Raf.)]、酸橙 (*C. auarantium* Linn.)、Swingle 枳柚 (*C. paradisi* Macf. × *P. trifoliata* Raf.) 等 7 種砧木。砧木種子除酸橘取自新竹，其餘均採自嘉義分所。苗木均以盆栽培育，於砧木 1 年生時嫁接，嫁接後 1 年，選擇苗木大小相近者於 2000 年定植。

試驗園與試驗設計

試驗園位於苗栗獅潭，試區土壤分析如表 1。株行距各 5 m，試驗採完全逢機設計 (completely ramdomized design, CRD)，以單株為重覆，各處理種植株數如表 2。施肥、修剪、病蟲害防治等工作按一般柑園管理或推薦量辦理，果園有噴灌設施。

表 1. 桶柑試驗區土壤分析

Table 1. Soil analysis of the ‘Tankan’ orchard

Soil depth (cm)	pH	Organic matter (%)	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn
			($mg \cdot kg^{-1}$)					
0–20	4.64	2.62	76	90	649	79	68	35
20–40	4.35	2.67	68	72	434	46	72	21

表 2. 萎縮病田間感染對不同砧木桶柑植株生長的影響

Table 2. Influence of tristeza field-infection on tree growth of Tankan tangor on different rootstocks [z]

Rootstock	No. of tree planted	Tristeza positive [y] (%)		Tristeza negative [y] (%)		Abandoned tree [x] (%)
		healthy	declined	healthy	declined	
Cleopatra (*Citrus reshni*)	13	30.8	0.0	69.2	0.0	0.0
Troyer citrange (*C. sinensis* × *Poncirus trifoliata*)	16	50.0	0.0	50.0	0.0	0.0
Swingle citrumelo (*C. paradisi P. rifoliata*)	16	50.0	0.0	50.0	0.0	0.0
Rough lemon (*C. jambhiri*)	14	64.3	0.0	35.7	0.0	0.0
Sunki (*C. sunki*)	8	37.5	0.0	62.5	0.0	0.0
Sour orange (*C. auarantium*)	15	0.0	0.0	60.0	0.0	40.0
Pummelo (*C. grandis*)	18	16.7	5.6	72.2	0.0	5.6

[z] Trees were planted in June 2000 and evaluated as healthy or declined (Fig. 1.) in Jan. 2007.
[y] Tristeza indexing by RT-PCR was conducted in Jan. 2007, based on the amplication of the CTV coat protein gene.
[x] Trees were abandoned owing to severe decline from 2005 to 2006.

果實產量調查與品質分析

產量調查分別於 2005 至 2010 年之果實成熟期進行，採收後計算單株果實總重量。果實品質分析於 2008 至 2010 年間進行，每處理選各年結果量中等植株各 6 株，以單株為重覆，採樹冠外圍、中間高度、中等大小者每株逢機採 12 果，分別調查重量、果皮厚度、縱徑、橫徑，計算其平均值。各株 12 果橫切後，以電動榨汁機 (Braun, MPZ6, USA) 榨汁成一樣品。果汁重除以果實重為果汁率，可溶性固形物以手提式曲折計 (Atago, N1) 測定，含酸量以 0.1 N NaOH 滴定，換算為每 100 mL 果汁中之檸檬酸 (citric acid) 含量。果皮色澤以色差儀 (spectrophotometer, Color-Guide, BYK-Gardner, Maryland, USA) 測定果實赤道相對 4 點，平均之，為該果之色澤參數。各株 12 果之平均值為該株之各項特性。

萎縮病 (Tristeza) 檢定與衰弱植株判定

植株萎縮病感染狀況調查，於 2007 年 1 月進行第一次採樣，2008 年 1 月第二次採樣，自樹冠周圍不同方向每株逢機取 20 成熟葉片，攜回實驗室取其葉脈，抽取 total RNA，以 RT-PCR 法，採用 Hilf *et al.* (1999) 所開發之 tristeza 專一性引子對 T36cp (+)/T36cp (-) 偵測植株是否感染萎縮病病毒。衰弱植株以外觀判定，有枯梢及枝梢黃化現象者為衰弱植株，與正常植株有明顯差異 (圖 1)。

統計分析

各調查項目之差異顯著性測驗，以 SAS 軟體之 PROC GLM (General linear model) 分析後，以 Tukey's Studentized Range Test 檢測不同處理間之差異性。

結　　果

植株生長狀況與萎縮病檢定

試區於 2000 年 6 月定植。2004 至 2005 年間，陸續有植株因衰弱而淘汰。至 2007 年春，不同砧木間衰弱或淘汰 (死亡) 植株比率，以酸橙砧最高，柚砧次之，分別為 40.0% 及 11.2%。其他酸橘、粗皮檸檬、Swingle 枳柚、美女橘及 Troyer 枳橙等砧木植株均無衰弱現象 (表 2)。由此結果判斷可能與萎縮病有關。2007 年 1 月以 RT-PCR 法檢定萎縮病，全部 93 株中有 36 株 (38.8%) 已感染萎縮病。除酸橙與柚外，其他 5 種砧木包括酸橘、美女橘、粗皮檸檬、Troyer 枳橙、Swingle 枳柚植株，已感染

圖 1. 健康椪柑之植株外觀 (A) 與感染萎縮病後發生枯梢及黃化現象植株 (B)。

Fig. 1. The canopy of healthy 'Tankan' trees (A) and declined tree showed dieback and yellowing symptom of tristeza infection (B).

者皆無衰弱現象，外觀上與未感染者相同。酸橙砧存活者 60.0%，均屬健株且無感染萎縮病，其餘 40.0%為已淘汰植株。2007 年 1 月檢測前，柚砧淘汰者 1 株 (5.6%)，萎縮病檢定結果，4 株已感染者有 3 株 (16.7%) 外觀健全、1 株 (5.6%) 呈現衰弱現象，未感染該病者 (72.2%) 均屬健株 (表 2)。2008 年 1 月再次檢定，柚砧、Troyer 枳橙及 Swingle 枳柚各有 1 株再感染。2008 春至 2010 春，再有 1 株已感染該病之柚砧者呈現衰弱現象，另一染病衰弱者淘汰，其餘所有植株外觀上均無異常。

經變方均質性測驗 (Levene's test for homogeneity of observes variance)，產量統計分析可忽略萎縮病的因素 ($p = 0.3769$)。萎縮病對品質之影響為 2008 年之果重 ($p = 0.0422$) 與 2009 年之皮厚 ($p = 0.0414$)。

果實產量調查

果實產量調查自 2005 年至 2010 年，其中 2010 年 1 月採收前衰弱或淘汰植株均未列入統計，包括 Swingle 枳柚砧 1 株、酸橙砧 6 株、柚砧 4 株 (表 2)。試區產量自 2005 年至 2008 年漸增，2009 年之產量則大幅增加，2010 年之產量又減少，顯示植株已達盛產期。2005 年單株平均產量以 Troyer 枳橙之 36.6 kg 最高，粗皮檸檬、酸橙、Swingle 枳柚、美女橘及酸橘砧次之，介於 29.8–18.1 kg，柚砧之 15.5 kg 最低。2006 年之產量以 Troyer 枳橙 47.1 kg、美女橘 46.7 kg 及粗皮檸檬 40.9 kg 最高，Swingle 枳柚、酸橘、酸橙次之，柚砧 15.5 kg 最低。2007 年之產量在處理間未達顯著差異。2008 年之產量，Troyer 枳橙 69.6 kg 最高，其次為美女橘、Swingle 枳柚及酸橙，酸橘 48.3 kg 與柚 45.3 kg 最低。2009 年之產量以美女橘 139.4 kg 與 Troyer 枳橙 137.2 kg 最高，其次為粗皮檸檬、Swingle 枳柚與酸橙，酸橘 96.7 kg 及柚 96.4 kg 最低。2010 年之產量在處理間未達顯著差異。2005 年至 2010 年合計，Troyer 枳橙 418.8 kg 最高，其次為美女橘 381.6 kg 與粗皮檸檬 374.3 kg，Swingle 枳柚 341.6 kg 與酸橙 334.1 kg 又次之，酸橘 299.8 kg 與柚 255.7 kg 最低。

果實品質分析

2008 年果實品質分析 (表 3)，平均果重以柚砧及酸橙砧最大，Swingle 枳柚、Troyer 枳橙、粗皮檸檬等砧木次之，酸橘砧與美女橘砧最小。橫徑在處理間之差異性與果重相同，縱徑、果皮厚度、果汁率及糖酸比在處理間無顯著差異。可溶性固形物含量以粗皮檸檬砧之 8.9°Brix 最低，其餘 6 種砧木間無顯著差異。含酸量最高為柚砧之 0.66%，與最低為粗皮檸檬砧之 0.56%達顯著差異。果皮色澤包括明度 (lightness)、色相角度 (hue angle) 以及彩度 (chroma) 等在處理間均無顯著差異 (表 4)。

2009 年果重、縱徑、橫徑、果皮厚度、含酸量及糖酸比等 6 項目在處理間無顯著差異。果汁率、可溶性固形物均以粗皮檸檬砧者最低，其他 6 種砧木間無顯著差異 (表 3)。

2010 年處理間果實品質主要差異為果汁率、含酸量及糖酸比；果重、橫徑、縱徑、果皮厚度及可溶性固形物在處理間均無顯著差異。果汁率以粗皮檸檬砧之 49.9%最低，酸橘砧最高 56.8%，二者間有顯著差異。含酸量以 Swingle 枳柚 0.75%、酸橘 0.73%與 Troyer 枳橙 0.72%最高，其次為柚、美女橘及酸橙，粗皮檸檬 0.59%最低。因可溶性固形物含量在處理間無顯著差異，處理間糖酸比之高低及差異性與含酸量呈相反趨勢 (表 3)。

討　　論

不同砧木之樹勢與萎縮病的關係

萎縮病普遍存在全世界各柑橘產區，可由大橘蚜 (*Toxoptera citricida*)、小橘蚜 (*T. aurantii*)、棉蚜 (*Aphis gossypii*) 及捲葉蚜 (*A. spiraecola*) 傳播 (Gottwald *et al*. 1998)，有強弱或不同病徵的系統。在亞洲，普遍存在苗黃系

表 3. 砧木對桶柑果實品質連續 3 年之影響

Table 3. Effects of rootstocks on fruit quality of Tankan tangor in three consecutive years [z]

Year	Rootstock	Fruit weight (g)	Diameter [y] (mm)		Rind thickness (mm)	Juice content (%)	Total soluble solid (°Brix)	Acidity (%)	TSS/acid
			trans.	longi.					
2008	Troyer citrange	199.4 abc [x]	75.3 abc	66.4 a	3.6 a	50.5 a	10.3 a	0.61 ab	17.0 a
	Rough lemon	195.6 bc	74.5 bc	66.3 a	3.8 a	47.8 a	8.9 b	0.56 b	16.0 a
	Cleopatra	187.9 c	73.3 c	64.5 a	3.5 a	51.7 a	9.4 a	0.60 ab	16.7 a
	Swingle citrumelo	201.4 abc	74.9 abc	66.0 a	3.7 a	49.5 a	10.0 a	0.62 ab	16.2 a
	Sunki	186.1 c	73.2 c	64.4 a	3.6 a	52.5 a	9.9 a	0.58 ab	17.2 a
	Sour orange	212.3 ab	76.5 ab	66.1 a	4.0 a	51.8 a	10.0 a	0.63 ab	16.0 a
	Pummelo	222.7 a	78.0 a	67.1 a	3.8 a	51.8 a	10.4 a	0.66 a	15.9 a
2009	Troyer citrange	207.0 a	65.4 a	76.1 a	3.7 a	52.1 ab	9.9 a	0.68 a	14.6 a
	Rough lemon	203.8 a	66.2 a	75.6 a	3.8 a	47.6 b	8.6 b	0.61 a	14.1 a
	Cleopatra	197.3 a	64.2 a	74.3 a	3.4 a	51.8 ab	10.1 a	0.65 a	15.6 a
	Swingle citrumelo	204.5 a	65.9 a	75.5 a	3.7 a	51.4 ab	9.8 a	0.68 a	14.1 a
	Sunki	199.4 a	64.5 a	74.8 a	3.4 a	51.1 ab	10.0 a	0.65 a	15.3 a
	Sour orange	208.9 a	65.2 a	76.0 a	3.7 a	53.7 a	9.9 a	0.69 a	14.4 a
	Pummelo	208.3 a	64.9 a	76.1 a	3.5 a	51.1 ab	9.8 a	0.67 a	14.9 a
2010	Troyer citrange	235.5 a	79.6 a	66.8 a	3.5 a	55.3 ab	11.2 a	0.72 a	15.6 bc
	Rough lemon	221.4 a	78.3 a	66.4 a	3.7 a	49.9 b	10.5 a	0.59 b	17.9 a
	Cleopatra	212.3 a	76.5 a	64.7 a	3.4 a	55.4 ab	10.5 a	0.67 ab	15.7 bc
	Swingle citrumelo	232.2 a	79.1 a	66.4 a	3.6 a	54.1 ab	10.9 a	0.75 a	14.5 c
	Sunki	210.1 a	76.4 a	63.8 a	3.5 a	56.8 a	10.8 a	0.73 a	14.9 bc
	Sour orange	218.7 a	77.8 a	65.2 a	3.6 a	54.8 ab	10.7 a	0.65 ab	16.4 ab
	Pummelo	235.6 a	80.2 a	65.8 a	3.5 a	54.5 ab	10.7 a	0.69 ab	15.6 bc

[z] Trees were planted in 2000. Fruits were harvested in Jan. (n = 6).
[y] Trans.: transversal; longi.: longitudinal.
[x] Means in the same column in the same year followed by the same letter are not different at 5% significant level by Tukey's Studentized Range test.

表 4. 砧木對桶柑果皮色澤之影響

Table 4. Effect of rootstocks on peel color of Tankan fruit [z]

Rootstock	Color parameter		
	Lightness	Hue angle (h^o)	Chroma
Troyer citrange	59.8 ± 0.2 a [y]	65.1 ± 0.6 a	64.3 ± 0.6 a
Rough lemon	59.4 ± 0.3 a	65.9 ± 0.6 a	62.8 ± 0.9 a
Cleopatra	60.2 ± 0.3 a	65.0 ± 0.6 a	63.0 ± 0.9 a
Swingle citrumelo	59.8 ± 0.3 a	65.0 ± 0.6 a	63.3 ± 9.7 a
Sunki	60.1 ± 0.2 a	66.1 ± 0.9 a	62.1 ± 1.5 a
Sour orange	60.3 ± 0.3 a	64.5 ± 0.4 a	65.0 ± 0.7 a
Pummelo	60.2 ± 0.3 a	64.4 ± 0.6 a	65.0 ± 1.2 a

[z] Trees were planted in 2000. Fruits were harvested in Jan. 2008 (n = 6).
[y] Means (± standard error) in the same column followed by the same letter are not different at 5% significant level by Tukey's Studentized Range test.

統 (CTV-SY)、萎縮系統 (CTV-T) 木質部凹陷系統 (CTV-SP) 及弱毒系統或單一或複合感染 (Koizumi 2001)，其病徵因病毒系統、柑橘品種及穗砧組合等因素而不同。當甜橙、寬皮柑、葡萄柚及桶柑、伊予柑等橘橙品種嫁接於酸橙、柚類或檸檬，感染萎縮病後較易引起衰弱的病徵，其致病系統一般是 CTV-SY 或 CTV-T，植株感染後，葉片黃化，產生急性或慢性枯萎現象，數年內植株死亡 (Koizumi 2001)。在西半球，主要柑橘砧木中酸橙對萎縮病為感病，曾造成巴西大面積甜橙死亡 (Garnsey 1988)。在台灣另有感染柚類造成嚴重莖陷的柚類莖陷 (P-SP) 系統 (Su 1981)。Zhao *et al*. (1993) 以可引起葡萄柚苗黃病徵 (seedling yellow) 之萎縮病系統接種於桶柑，並無產生莖部凹陷 (stem pitting) 或植株矮化等徵狀。即桶柑本身為耐病或抗病，但可能因砧木而造成植株衰弱。

本試區於 2000 定植，40%酸橙砧與 5.6%柚砧植株於2004至2005年間衰弱而淘汰，2007年檢查萎縮病時，存活之酸橙砧植株均屬健株，柚砧已感病者，陸續有 2 株衰弱或死亡；其他砧木之植株無論感病與否皆無病徵。由於該試區較隔離，並無黃龍病與土壤病害之病徵，且酸橙對疫病較酸橘、Troyer 枳橙、美女橘及粗皮檸檬耐病 (Ann 1989)，故可推斷檢定前淘汰的酸橙及柚砧植株均應是感染萎縮病。試驗區在幼苗期因新芽陸續生長易遭蚜蟲傳染萎縮病，進入結果期後，除春季外，新芽生長量大幅減少，感染率降低。位於台中豐原之椪柑砧木試驗區，種植 7 年後檢測，全部植株均感染萎縮病，存活者酸橙砧有 80.0%衰弱、柚砧 40%衰弱，其他砧木則無衰弱現象 (作者等未發表資料)，顯示柚砧為感病，但較酸橙耐病，其他砧木為抗病或耐病。在嘉義之茂谷柑砧木試驗，酸橙砧與柚砧健株之比率甚至較其他砧木高 (Hwang & Hung 2007)，此可能因萎縮病系統與蚜蟲種類之差異 (Gottwald *et al*. 1996) 而影響感病性砧木田間發病情況。此外柚類品種間對萎縮病之感病性有相當程度之差異 (Garnsey *et al*. 1996; Fang & Roose 1999)，台灣之柑類甚少採用柚砧，但葡萄柚、檸檬及柚類則多以柚類為砧木，不同柚類品種與萎縮病系統間之感病性有待探討，而本試驗結果，桶柑不宜以酸橙或柚類為砧木。

砧木對產量與品質的影響

砧木對柑橘類產量之影響，雖各報告間有所差異，一般而言，粗皮檸檬多屬於較高者，Troyer 枳橙與 Swingle 枳柚屬於中等，美女橘砧之產量較低 (Ferguson *et al*. 2003; Hwang & Hung 2007; Miller *et al*. 1997; Oliverira Jr. *et al*. 2003; Roose 1997; Snyman *et al*. 1997)。本試驗結果，粗皮檸檬產量高、Swingle 枳柚屬於中等 (表 5)，與前述報告相同，然 Troyer 枳橙產量最高、美女橘屬中高則與前述報告有所差異。此應與接穗品種、環境有關。酸橘是台灣柑類的主要砧木，其產量在本試驗及茂谷柑之試驗結果均偏低 (Hwang & Hung 2007)。但 Oliverira Jr. *et al*. (2003) 之報告，酸橘砧與粗皮檸檬砧之椪柑產量最高。Davies & Albrigo (1994) 則由甜橙與葡萄柚為主的試驗歸納，粗皮檸檬與 Swingle 枳柚產量屬最高、酸橙與 Troyer 枳橙中等，美女橘較低。

同種類之耐病根砧植株，與未感染該病者比較，已感染者，粗皮檸檬與 Swingle 枳柚砧者產量稍減少，美女橘與酸橘則增加，Troyer 枳橙則無顯著差異 (表 6)。Van Vuuren (2002) 以 6 萎縮病系統分別接種於不同耐病砧木之 2 甜橙品種，於 2 地點試驗結果，萎縮病對產量之增減，並無或極少達顯著性差異。萎縮病對植株產量或生長之影響，應與病原系統、砧木種類及接穗品種有關。萎縮病感染非本試驗處理項目，它對耐病根砧桶柑植株之影響仍待更進一步試驗。

表 5. 砧木對桶柑連續 6 年產量的影響

Table 5. Effect of rootstocks on yield of Tankan tangor in six consecutive years

Rootstock	No. of trees[z]	Year						
		2005	2006	2007	2008	2009	2010	Total[y]
Troyer citrange	16/16	36.6 ± 5.8 a[x]	47.1 ± 5.4 a	56.9 ± 5.8 a	69.6 ± 4.8 a	137.2 ± 6.7 a	71.4 ± 9.1 a	418.8 ± 18.7 a
Rough lemon	14/14	29.8 ± 4.5 ab	40.9 ± 5.1 a	53.2 ± 4.7 a	54.3 ± 5.6 b	120.7 ± 6.7 ab	75.4 ± 6.8 a	374.3 ± 15.9 ab
Cleopatra	13/13	22.3 ± 3.9 ab	46.7 ± 4.7 a	39.9 ± 5.7 a	62.5 ± 5.6 ab	139.4 ± 5.4 a	70.7 ± 8.7 a	381.6 ± 19.4 ab
Swingle citrumelo	16/15	26.2 ± 4.2 ab	35.9 ± 6.0 ab	42.2 ± 5.4 a	61.5 ± 3.7 ab	114.5 ± 10.8 ab	61.4 ± 5.1 a	341.6 ± 24.2 abc
Sunki	8/8	18.1 ± 3.8 ab	27.5 ± 5.9 ab	29.3 ± 5.7 a	48.3 ± 8.4 b	96.7 ± 11.5 b	79.9 ± 13.3 a	299.8 ± 38.8 bc
Sour orange	15/9	27.6 ± 4.8 ab	23.5 ± 4.8 ab	33.1 ± 6.9 a	58.4 ± 5.7 ab	113.0 ± 10.0 ab	78.6 ± 9.2 a	334.1 ± 28.7 abc
Pummelo	18/15	15.5 ± 3.9 b	15.5 ± 4.7 b	34.0 ± 6.7 a	45.3 ± 5.6 b	96.4 ± 11.6 b	55.3 ± 7.2 a	255.7 ± 25.5 c

[z] No. of trees: planted/investigated. Trees were planted in 2000 and declined trees were excluded from calculation.
[y] Total was the sum from 2005 to 2010.
[x] Data presented are means ± standard error (kg/tree). Means in the same column followed by the same letter are not different at 5% significant level by Tukey's Studentized Range test.

表 6. 萎縮病感染對耐病砧木桶柑產量的影響

Table 6. Effect of tristeza infection on yield of Tankan tangor grafted on tolerant rootstocks

Rootstock	Tristeza indexing[z]	No. of trees	Yield (kg/tree)[y]
Troyer citrange	negative	9	281.3 ± 12.2
	positive	8	275.0 ± 22.1
Rough lemon	negative	6	266.4 ±12.0
	positive	8	238.4 ± 10.2
Cleopatra	negative	9	261.5 ± 12.6
	positive	4	297.8 ± 20.5
Swingle citrumelo	negative	8	252.9 ± 17.9
	positive	7	217.4 ± 20.6
Sunki	negative	5	192.8 ± 29.7
	positive	3	278.6 ± 57.3

[z] Tristeza indexing by RT-PCR was conducted in Jan. 2007, based on the amplication of the CTV coat protein gene.
[y] Yield (means ± standard error) was the sum from 2008 to 2010.

由不同的柑橘試驗結果歸納，生長勢強之砧木如粗皮檸檬、廣東檸檬等產量較高，果實糖酸含量較低；生長勢中庸者如枳橙、酸橙之果實糖酸含量中等；生長勢弱者如枳殼產量低，果實糖酸含量則較高 (Davies & Albrigo 1994)，茂谷柑之砧木試驗結果，粗皮檸檬砧在不同地點之糖酸含量皆偏低 (Hwang & Hung 2007)。本試驗 2008 至 2010 年處理間果實品質主要差異為，粗皮檸檬砧之果汁率、可溶性固形物及含酸量 3 項均較低，3 年中分別有 2 年達顯著差異 (表 3)，與上述結果相同。但亦有報告果實品質在砧木間無顯著差異者 (Oliverira Jr. *et al.* 2003; Reforgiato *et al.* 1997)。本試驗，粗皮檸檬以外之砧木，其果實品質主要特性在各年間之差異較少，也不一致。

結 論

萎縮病可經由蚜蟲傳播，田間普遍發生且不易防治。酸橙砧與柚砧植株感染萎縮病後易衰弱或死亡，不宜作為桶柑之砧木。粗皮檸檬砧之果實風味較淡。Troyer 枳橙、粗皮檸檬及美女橘產量較高，但對疫病、柑橘線蟲均為感病 (Ann 1989; Chang 1980; Lin 1989)，需注意防範。酸橘為桶柑目前之主要砧木，對疫病、柑橘線蟲亦為感病；Swingle 枳柚產量屬中等，但較酸橘高，對該兩土壤病害具抗病性，作為桶柑之砧木較酸橘更有利，但應採用無鱗砧病與破葉病之健康接穗

誌 謝

本報告承本所嘉義分所廖大經助理研究員協助統計分析，謹此致謝。

引用文獻 (Literature cited)

Ann, P. J. 1989. *Phytophthora* diseases of citrus in Taiwan. p.212-221. *in* the Proceeding of Symposium on the Researches and Development of Citrus in Taiwan. TARI. (in Chinese with English abstract)

Ashkenazi, S. 1992. Growing Murcott in Israel. Rootstocks, quality and yield. Alon Hanotea 46:321–329.

Chang, D. C. 1980. The selection and test of citrus rootstocks as host of *Partylenchus coffeae* and *Tylenchulus semipenetrans* Cobb. J. Chin. Soc. Hort. Sci. 26:71–77. (in Chinese with English abstract)

Davis, F. S. and L. G. Albrigo. 1994. Citrus. CAB International. Oxon, UK. 242pp.

Fang, D. Q. and M. L. Roose. 1999. A novel gene conferring citrus tristeza virus resistance in *Citrus maxima* (Burm.) Merrill. HortScience 34:334–335.

Ferguson, L., H. Reyes, P. Metheney, M. L. Apiaia, and T. C. Chao. 2003. Performance of ‘Okitsu Wase’ and ‘Dobashi Beni’ Satsuma mandarin on eight different rootstocks in California’s central valley. Proc. Int. Soc. Citriculture 1:482–484.

Figueiredo, J. O., J. D. Negri, D. Mattos Jr., R. M. Pio, F. A. Azevedo, and V. X. P. Garcia. 2006. Behavior of sixteen rootstocks for Murcott in Itirapina, SP, Brazil. Rev. Bras. Frutic. 28:76–78.

Garnsey, S. M. 1988. Tristeza. p.61–63. *in*: Compendium of Citrus Diseases. 2nd ed. (Timmer, L. W., S. M. Garnsey, and J. H. Graham, eds.) APS Press.

Garnsey, S. M., H. J. Su, and M. J. Tsai. 1996. Differential susceptibility of pummelo and Swingle citrumelo to isolates of tristeza virus. p.138–146. *in* the Proceeding of the 13th Conf. of the IOCV, IOCV, Riverside. CA. USA.

Gottwald, T. R., S. M. Garnsey, and J. Borbon. 1998. Increase and patterns of spread of citrus tristeza virus infection in Costa Rica and the Dominican Republic in the presence of the brown aphid, *Toxoptera citricida*. Phytopathology 88:621–636.

Gottwald, T. R., S. M. Garnsey, M. Cambra, P. Monrno, M. Irey, and Brobon. 1996. Differential effects of *Toxoptera citricida* vs. *Aphis gossypii* on temporal increase and spatial patterns of spread of citrus tristeza. p.120–129. *in* the Proceeding of the 13th Conf. of the IOCV, IOCV, Riverside. CA. USA.

Hilf, M. E., A. V. Karasev, M. R. Albiach-Marti, W. O. Dawson, and S. M.Garnsey. 1999. Two paths of sequence divergence in the citrus tristeza virus complex. Phytopathology 89:336–342.

Hwang, A. S. 2000. Characteristics of citrus rootstocks and its choice in citriculture. J. Chin. Soc. Hort. Sci. 46:133–146. (in Chinese with English abstract)

Hwang, A. S. and S. C. Hung. 2007. Effects of rootstocks on tree growth, yield and fruit quality of ‘Murcott’ tangor. J. Taiwan Agric. Res. 56:298–306. (in Chinese with English abstract)

Koizumi, M. 2001. Citrus Tristeza Virus-Symptom and Control. FFTC Pub. 4 pp.

Lin, Y. Y. 1989. The problem of citrus nematode. p.33–42. *in* the Proceeding of Symposium on Plant Nematode Disease Controls. TARI. (in Chinese)

Miller, J. E., J. G. Maritz, and P. Bird. 1997. Screening of potential rootstocks for ‘McClean’ navel and ‘Delta’ Valencia in the Sunday River valley. Proc. Int. Soc. Citriculture 1:243–247.

Oliverira Jr., M. E., I. Manica, T. V. Parente, and O. K. Yamanishi. 2003. Yield of ‘Ponkan’ mandarin trees grafted on 14 rootstocks grown under Savanna condition of Brasilia-DF, Brazil. Proc. Int. Soc. Citriculture 1: 511.

Reforgiato, R. G., A. Caruso, R. Marino, and G. Russo. 1997. Standard and dwarfing rootstocks to overcome unproductivity of 'Comune' Clementine. Proc. Int. Soc. Citriculture 1:259–262.

Roose, M. L. 1997. Performance of 4 citrus on 21 rootstocks in California. Proc. Int. Soc. Citriculture 1: 141–144.

Snyman, J. C., H. T. breedt, P. J. J. Koekemoer, and J. E. Miller. 1997. Evaluation of rootstocks for Valencia in South Africa. Proc. Int. Soc. Citriculture 1: 268–270.

Su, H. J. 1981. A tristeza virus strain causing dwarf of pummelo and grapefruit. Proc. Int. Soc. Citriculture 1:423–430.

Van Vuuren, S. P. 2002. Effect of citrus tristeza virus isolates on two tolerant commercial scions on different rootstocks in South Africa. p.31–38. *in* the Proceeding of the 15^{th} Conf. of the IOCV, IOCV, Riverside. CA. USA.

Weng, J. L. 1973. Effects of different rootstocks on the physiological and morphological changes of citrus fruits. J. Chin. Soc. Hort. Sci. 19:319–327. (in Chinese with English abstract)

Wutscher, H. K. 1979. Citrus rootstocks. Hort. Rev. 1:237–269.

Zhao, X., C. Zhou,Y. Jiang, X. He, J. Cheng, and Z. Cheng. 1993. Evaluation of tristeza tolerance of 45 citrus types. p.73–77. *in* the Proceeding of the 12^{th} Conf. of the IOCV, IOCV, Riverside. CA. USA.

Effects of Rootstocks on Tree Growth, Yield and Fruit Quality of Tankan Tangor [1]

A-Shiarn Hwang[2] and Shih-Cheng Hung[3,4]

Abstract

Hwang, A. S. and S. C. Hung. 2009. Effects of rootstocks on tree growth, yield and fruit quality of Tankan Tangor. J. Taiwan Agric. Res. 59:209–218.

Tankan tangors grafted on seven rootstocks were planted in an orchard located in Miaoli County. The effects of rootstocks on tree growth, yield and fruit quality were investigated. 40% of the trees grafted on sour orange and 5.6% of trees on pummelo declined during the fourth and fifth year after planting. Plants were indexed for tristeza by RT-PCR in the seventh year. The results showed that trees on sour orange and pummelo were susceptible to tristeza, however pummelo was relatively tolerant. Trees on the other 5 rootstocks including Sunki, Cleopatra, rough lemon, Troyer citrange and Swingle citrumelo were tolerant or resistant. Yield was examined from the fifth to tenth year. The highest yield was found in plants grafted on Troyer, followed by Cleopatra and rough lemon, Swingle and sour orange, and Sunki and pummelo. Fruit qualities were compared from the eighth to tenth year. The major differences in fruit quality among the rootstocks were that the juice content, total soluble solid and acid content were significantly lower from trees grafted on rough lemon than on the other six rootstocks. The differences in fruit qualities among the other six rootstocks were not significant and were not consistent during the three years of investigation.

Key words: Tankan, Rootstock, Yield, Fruit quality, Tristeza.

---

1. Contribution No. 2423 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: October 25, 2010.
2. Associate Horticulturist, Department of Horticulture, Chiayi Agricultural Experiment Station, TARI, Chiayi, Taiwan, ROC.
3. Assistant Entomologist, Department of Plant Protection, Chiayi Agricultural Experiment Station, TARI, Chiayi, Taiwan, ROC.
4. Corresponding author, e-mail: sch@dns.caes.gov.tw; Fax: (05)2773630.

「台灣農業研究」稿約

一、 本刊為行政院農業委員會農業試驗所發行之學術性季刊，刊登農業試驗研究相關之研究稿件：

論　　說：由本所邀請專家撰寫。

研究報告：關於農業科學未曾發表之研究報告，按題目、作者、摘要、前言、材料與方法、結果、討論、結論 (一般略去)、誌謝 (可略去)、引用文獻等依序撰寫，圖與表附於其後，全文以不超過 10 印刷頁為原則。

研究簡報：關於農業科學未曾發表之簡短原始研究報告，不須分章節撰寫，但須附中英文摘要，全文以不超過 4 印刷頁為原則。

二、稿件應以中文或英文撰寫。來稿請送原稿及電子檔案各一份 (內各附照片原圖，繪製圖版可附原圖與影印圖片二份)。文稿以 A4 大小之白色紙張 (長 29.6 公分，寬 21 公分) 兩倍行高 (double space) 打字，12 號字體，左邊對齊，版面應上下預留 3 公分，左右 2 公分之空間，並自第二頁起在右下角以阿拉伯數字註明頁數。撰寫時，中文以細明體、英文以 Times New Roman 字體打字；英文字距一格，句距二格。審查接受之稿件，隨文請附紙本文稿一份與電子檔案，以利送審及電腦排版等作業。

三、稿件格式：

題　目：宜簡短，能充分反應文旨，並附簡題 (Running title) (中文 12 字；英文 6 字以內為原則)。英文題目除介系詞、連接詞等字外，每字第一字母應大寫。題目附小註，說明研究報告編號。

作　者：作者姓名置中，中文名字間空一格；英文姓名則名在前姓氏在後，作者二人或二人以上時，以 “，” 相隔，最後一人前加 “and” 字樣，其表示方法如 Chen-Seng Huang, Chen-Chang Chen, and Chyr-Guan Chen。每一作者須附小註，以說明所屬機關單位，通訊作者須附電子郵件信箱與傳真機號碼。題目與作者同置第一頁。

摘　要：不分段落、宜簡潔明確。摘要之前應加作者、年代、題目、期刊、及卷期，摘要之後應附關鍵詞 (Key words)，關鍵詞不超過 5 個，每個英文關鍵詞第一字母應大寫。摘要以不超過 500 字為原則。以中 (英) 文發表者須附英 (中) 文摘要，置於本文之後，且內容須與中 (英) 文摘要相符，並附稿件編號、作者、通訊作者之小註。

本　文：依序為前言 (INTRODUCTION)、材料與方法 (MATERIALS AND METHODS)、結果 (RESULTS)、討論 (DISCUSSION)、結論 (CONCLUSION)、誌謝 (ACKNOWLEDGEMENTS)、引用文獻 (LITERATURE CITED)。除學名、專有名詞、化學式、數學公式、數字、度量衡單位及縮寫外，文句中不得中外文並用，需使用英 (外) 文以助明瞭時，須將英 (外) 文括號置於中文之後。材料與方法、結果兩部份如有必要須分章節，每一章節內並可再分小章節，以助明瞭文稿內容。章節題目 (heading) 單行置於該章節之前，小章節題目 (subheading) 直接置於小章節之首。

表　格：

1、每一表格應分別繕製，須以 WORD®中 “表格” 工具製作，上方須有標題，並按文中出現順序加上**表 1. (Table 1.)**，**表 2. (Table 2.)** 等冠號。

2、中文稿之表格標題應中英文並列，冠號與表幅齊頭，表內項目及內容以英文書寫。英文標題及各欄英文細目，除第一字之第一字母大寫外，餘均小寫。

3、表格應加分析、簡化與歸納後始可列表。每一表格應在文中標示清楚，以便對照。

4、表中內容如需說明，均須附加小註，以 z, y, x,...等縮小小寫字母置於右上角，並於表下依次敘述。表格僅列橫線。

5、性質類同之圖與表，務請精簡與合併。

圖　　片：

1、手繪圖版以黑色墨水分別繪圖紙或描繪紙（白色透明紙）上。如以電腦繪圖，請以鐳射印表機或同規格之印表機列印，力求清晰。

2、圖中所有標示應以英文書寫（Arial 字型）或註明於標題之後。

3、照片以光面紙為原則，清晰度以縮小 50%可判讀為宜。多幅照片儘量製成併版；如有特別指明，應加圈或箭頭表明。顯微照相，應加比例尺大小；照片大小以不超過版面（25 cm × 18 cm）為宜。

4、圖版及照片下方應有標題，並按文中出現的順序加上圖 **1. (Fig. 1.)**、圖 **2. (Fig. 2.)** 等冠號，在文中須標示清楚，以便對照。中文稿標題應中英文併列，力求明確。

5、除併圖外，每一圖片應單頁製作。

6、照片、圖片背面應註上冠號及作者姓名，以免排印錯誤。

誌　　謝：不分段落，包括人物、經費來源等。誌謝可略去。

引用文獻：

1、列舉確實曾引用之文獻。文獻以登載於學術性期刊、書籍、研討會之文章及學位論文為限。文中涉及引用文獻時，根據該文獻的作者與年代加以括號：如 (Sung 1991)、(Lo 1991, 1992)、(Chen & Ho 1983)、(Sung 1991; Hsu *et al.* 1992)，以年代先後為序置於引用文處。

2、文獻須以英文撰寫，以姓名字母為序。作者相同時以年代先後為序。

3、文獻之書寫方法以期刊為例，依序為作者、年代、題目、期刊、卷期、頁數。

4、期刊名須依該期刊公告之縮寫撰寫；如無者，請參照 Biosciences Information Service (1992) 出版之 "Serial Sources for the BIOSIS Previews Database"或依該學術領域之慣例撰寫。

5、文獻書寫範例如下：

(1) 原中文報告引用文獻出自學術性期刊

Hsu, S. H., T. Y. Chung, T. C. Kuo, and S. F. Wang. 1992. Studies on the micro-climate of greenhouse. I. Light environment of greenhouse. J. Agric. China 157:34–43. (in Chinese with English abstract)

(2) 原中文報告引用文獻出自著作性書籍

Sung, J. M. 1991. Nitrogen metabolism of rice. Chinese Agronomy Press. Taipei. 100 pp. (in Chinese)

(3) 原中文報告引用文獻出自編輯性書籍

Yang, C. M. and C. Y. Lin. 2003. Studies on rice precision farming system. p.1–12. *in*: Rice Precision Farming System. (Yang, C. M. and C. Y. Lin, eds.) Agric. Res. Inst. Pub. No. 105. Taichung. 252 pp. (in Chinese with English abstract)

(4) 原中文報告引用文獻出自研討會專刊

Chang C. A. 2001. Application and extension of virus-free seedling for the control of virus diseases of passionfruit in Taiwan. p.31–38. *in* the Proceeding of Symposium on Application of Healthy Plant for Control of Plant Diseases. Taiwan Phytopathol. Soc. Pub. Taichung. (in Chinese with English abstract)

四、單位、縮寫格式、括號及統計分析

1、凡文中出現之數值，除非另有特別之意義，一律用阿拉伯數字書寫。單位如以英文表示，則用國際公認標準符號 (SI units) 代替全文，各常用之縮寫單位參照說明如下：

(1)長度：公里 (km)、公尺 (m)、公分 (=厘米) (cm)、公釐 (=毫米) (mm)、微米 (μm)。

(2)重量 (W)：公斤 (kg)、公克 (g)、毫克 (mg)、μg。
(3)容積 (V)：公升 (L)、公撮 (=毫升) (mL)、μL。
(4)面積：公頃 (ha)、平方公尺 (m^2)、平方公分 (cm^2)。
(5)溫度：攝氏 (℃)、絕對溫度 (K，但須加以說明)。
(6)時間：日 (天) (d)、時 (h)、分 (min)、秒 (s)。
(7)濃度：莫耳 (M)、千分之一莫耳 (mM)、當量 (N)、千分之一當量 (mN)。
(8)重力加速度：*g*。

2、其他之縮寫：平均 (*av*)、大約 (*ca*)、直徑 (diam.)。

3、括號：括號字型全以半形 ( )，括號前後各空一格。

4、統計分析：達顯著性水準以*、**或處理間顯著差異區分，以 a、b、c、...表示者均應加註顯著機率值 *P* (例如 $P < 0.01$)；各統計量請採慣用符號，例如相關係數 (*r*) 、決定係數 (R^2)、變異係數 (cv)、標準差 (sd)、平均值標準差 (se) 等。

5、其他問題：
(1)單位與其前面數值之間應空一格，如 220 g。
(2)數學運算符號與其前後數值之間應各空一格，如 P = 0.014、23.6 ± 3.0、15 × 2。
(3)在±、×或 to 的前後兩數值若是含有單位，請用 23.6% ± 3.0%、15 cm × 2 cm、20℃ to 30℃ (即勿省略前面數值之單位)。
(4)數值起迄符號用– (全型破折號)，勿用~或-，且與前後兩數值之間無須留空格，如 3–6、2005–2007 年、7 月 20–25 日。
(5)年代一律用西元。

五、其他注意事項

1. 生物學名以斜體字表示，屬名第一字母大寫。學名於摘要、本文、每一圖表中第一次出現時，須寫全名，如 *Citrus sinensis*；第二次出現時，屬名保留第一字母後加句點 “.”，種名全寫，如 *C. sinensis*。生物學名於本文中首次出現時應加註命名者。
2. 中文稿件中，外文名詞應儘量翻譯成中文，若是不常見名詞應於文中第一次出現時以括號標出原文。摘要及本文中，英文縮寫於第一次出現時，須附全名。

六、投稿方式

1. 稿件內容務須依照上列規定格式書寫，本期刊編輯委員保有修改與退稿之權利。文稿經本期刊接受後，作者得送含文稿內容之磁片或電子檔案 (IBM 相容電腦之文書管理檔，如 Word 檔或其他) ，並由作者負責前二校。除筆誤與錯字外，作者在校稿時，不得擅自更改內容與數據。
2.審稿程序請上網參閱本期刊「論文審查制度流程」，網址：http://www.tari.gov.tw/。

七、文稿必須是作者本身的著作，且作者為唯一的著作權擁有者，否則因此引發之法律責任將由作者負責。投稿應為未經刊登之文章，亦不得一稿多投。投稿需經所有作者同意。稿件經本期刊接受後，投稿人需繳交「著作權讓與書」，如未提供者，本期刊不予刊登。著作財產權屬農試所所有，非經本所書面同意，不得轉載或移轉他處發表。本期刊有權對文稿進行必要之詞句修改。

八、來稿經編審委員會審查合格後刊登，由本刊印贈抽印本 50 本；彩色頁印刷及抽印本加印費用由投稿人自行負擔。

九、其他未盡事宜本期刊得隨時修正或補充。

台 灣 農 業 研 究

（原中華農業研究）

第五十九卷　第三期

中華民國九十九年九月出版

發　行　人：陳 駿 季

總　編　輯：方 尚 仁

主　　　編：吳 宜 晏　陳 盈 佑

編審委員：

生技組：吳 明 哲（主審）

作物組：歐 錫 坤（主審）

黃 肇 家　楊 純 明　施 昭 彰

農化組：郭 鴻 裕（主審）

簡 宣 裕　劉 滄 棽

植病組：安 寶 貞（主審）

鄧 汀 欽

應動組：王 清 玲（主審）

陳 健 忠

農工組：蔡 致 榮（主審）

黃 禮 棟

種原組：黃 勝 忠（主審）

農經組：張 采 蘋（主審）

花卉中心：謝 廷 芳（主審）

嘉義分所：楊 宏 仁（主審）

鳳山分所：陳 甘 澍（主審）

另聘請各大學院校及研究機關相關學者專家擔任審查委員

Vol. 59, No. 3 September, 2010

JOURNAL
OF
TAIWAN AGRICULTURAL RESEARCH
(Formerly Journal of Agricultural Research of China)

PUBLISHER: Chen, Junne-Jih

EDITOR IN CHIEF: Fang, Shan-Jen

EDITORS:

Wu, Yi-Yan Chen, Ying-You

EDITORIAL BOARD:

Ann, Pao-Jen (Plant Pathology)
Chen, Kan-Shu (Tropical Horticulture)
Hsieh, Ting-Feng (Floriculture)
Ou, Shyi-Kuan (Crop Science)
Wang, Chin-Ling (Applied Zoology)
Yang, Hong-Ren (Subtropical Agriculture)
Chang, Tsai-Ping (Agriculture Economics)
Guo, Horng-Yuh (Agriculture Chemistry)
Huang, Sheng-Chung (Crop Genetic Resources)
Tsay, Jyh-Rong (Agriculture Engineering)
Wu, Min-Tze (Biotechnology)

EDITORIAL ADVISORY BOARD:

Chen, Chien-Chung
Chien, Shiuah-Yuh
Deng, Ting-Chin
Huang, Chao-Chia
Huang, Li-Duhng
Liu, Tsang-Sen
Shih, Jau-Chang
Yang, Chwen-Ming

Reviewers of the related fields are also invited from universities and other research organizations.

台灣農業研究第五十九卷第三期

出 版 者：行政院農業委員會農業試驗所

發 行 人：陳駿季

總 編 輯：方尚仁

地　　址：41362台中縣霧峰鄉萬豐村中正路189號

網　　址：http://www.tari.gov.tw

電　　話：(04)23302301

出版日期：中華民國九十九年九月三十日

定　　價：新臺幣一七五元

展售門市：

1.國家書店 / 104 臺北市松江路209號1樓　　(02)25180207
國家網路書店 http://www.govbooks.com.tw

2.五南文化廣場 / 400 臺中市中山路6號　　(04)22260330

承 印 者：學安文化事業有限公司

電　　話：(04)22861600

ISSN 0022-4847
GPN 2009500560

September, 2010

Journal of Taiwan Agricultural Research

(Formerly Journal of Agricultural Research of China)

Vol. 59, No. 3

Research Reports

Optimization for the Anthocyanin Extraction from Purple Sweet Potato Roots, Using Response Surface Methodology
Che-Lun Huang, Wayne-Chang Liao, Chin-Feng Chan, and Yung-Chang Lai 143

Morphological Identification of Thrips Larvae (Insecta: Thysanoptera)
Feng-Chyi Lin, Yi-Chung Chiu, Meng-Yu Hsu, and Chin-Ling Wang 151

In Vitro Induction of Polyploidy from Nodal Explants of *Anoectochilus formosanus*
Chi-Ni Hsia, Jian-Tan Huang, Uei-Chern Chen, Chin-Yi Tsao, Shu-Hui Liang, and Hsin-Sheng Tsay 165

Immature Stages of *Phyllotreta striolata* (Fabricius) (Coleoptera: Chrysomelidae)
Chi-Feng Lee and Yi-Chung Chiu 177

Genetic Diversity Analysis Using ISSR Marker on Longan (*Dimocarpus longan* Lour.) Germplasm
Kung-Kuo Chiang, Ien-Chie Wen, Wei-Yu Lee, and Ching-Yi Chang 185

A New Litchi Cultivar 'Tainung No. 5 (Ruby)'
Jer-Way Chang, Chung-Ruey Yen, Wan-Ling Wang, and Mau-Nan Lu 197

Effects of Rootstocks on Tree Growth, Yield and Fruit Quality of Tankan Tangor
A-Shiarn Hwang and Shih-Cheng Hung 209

Published by Taiwan Agricultural Research Institute,
Council of Agriculture Taichung, Taiwan, Republic of China
行政院新聞局出版事業登記證局版臺省誌字第二九八號 中華郵政中臺字第〇三〇九登記為雜誌交寄

ISSN 0022-4847
9 770022 484003
GPN 2009500560
定價：新台幣一七五元